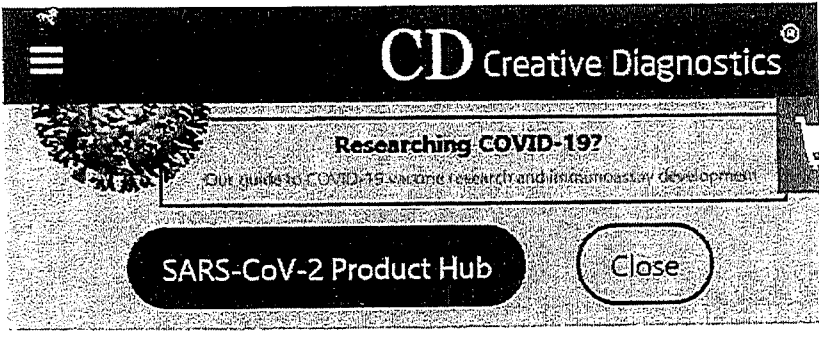


A1



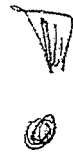
Home SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 Coronavirus Multiplex RT-qPCR Kit

SARS-CoV-2 Coronavirus Multiplex RT-qPCR Kit (CD019RT)



Regulatory status: For research use only, not for use in diagnostic procedures.



RealStar[®]

SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0

For research use only!

(RUO)

Kreuzreaktionen mit 7 !!! anderen Erregern, darunter auch Bakterien:



A2

ROBERT KOCH INSTITUT

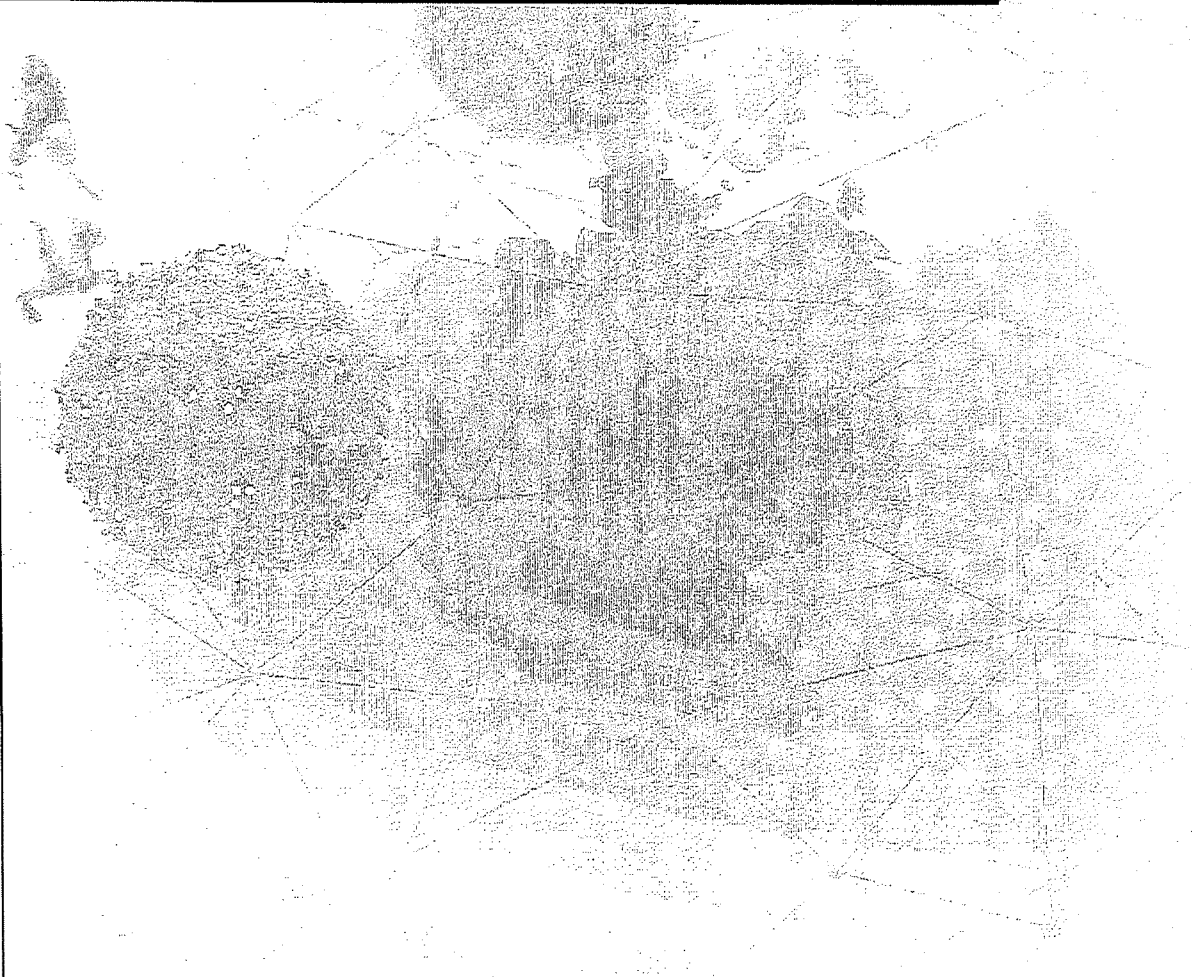


AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN
ZU INFektionsKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

39
2020

Epidemiologisches Bulletin

24. September 2020



**Abwägung der Dauer von Quarantäne
und Isolierung bei COVID-19;
Toleranzen gegenüber bioziden Wirkstoffen**

b) **Sensitivität der Laboruntersuchung:** Je weiter die Quarantänedauer zeitlich voranschreitet, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit eines Virusnachweises bei Infizierten und entsprechend aussagekräftiger ist ein negatives Untersuchungsergebnis (siehe Abb. 2, RT-PCR). Somit können infizierte, aber (noch) symptomfreie Personen mit positivem Untersuchungsergebnis einer Isolierung zugeführt werden, bis sie nicht mehr ansteckungsfähig sind, während Personen mit negativem Untersuchungsergebnis ggf. vor Ablauf der 14 Tage aus der Quarantäne entlassen werden könnten.

Zu beachten ist dabei, dass jede Verkürzung der Quarantänedauer mit einer Zunahme der Unsicherheiten in der Daten- und Rechengrundlage einhergeht. Diese beruhen auf Unterschieden im Infektionsverlauf zwischen Personen: Bei einer kürzeren Quarantänedauer, beispielsweise von nur 5 Tagen, ist die Unsicherheit darüber, bei wie vielen Personen durchschnittlich bereits Symptome erwartet werden, maximal (siehe Punkt a). Bei kombinierten Quarantäne- und Teststrategien kommt zudem noch die Testsensitivität hinzu. Zum Beispiel ist die Nachweisbarkeit des Virus bei stark verkürzter Quarantäne schlecht (siehe Punkt b). Beide Unsicherheiten steigen also mit zunehmender Verkürzung der Quarantänedauer und potenzieren sich gegenseitig.

Isolierungsdauer

Die aktuelle Empfehlung des RKI zur Isolierungsdauer sieht ein differenziertes Vorgehen je nach Krankheitsschwere vor. Bei **leichten** (bzw. asymptomatischen) Verläufen werden mindestens 10 Tage ab Symptombeginn (bzw. Erreger-Erstnachweis) bei mindestens 48 Stunden Symptomfreiheit empfohlen. Bei **schweren** Verläufen und geriatrischen Fällen in Altenpflegeeinrichtungen wird zusätzlich zu den genannten zeitlichen Kriterien eine PCR-Untersuchung inkl. möglicher Ct-Wertbestimmung gefordert (s. [Text-Box](#)); immungeschwächte Personen erfordern eine Einzelfallbeurteilung.

Die Ursache für diese vergleichsweise komplexe Regelung zur Isolierungsdauer liegt in der Abhängigkeit der Dauer der Ansteckungsfähigkeit von unterschiedlichen Faktoren wie Krankheitsschwere, bio-

logischem Alter und Immunstatus, die sich alle – ebenso wie die Ansteckungsfähigkeit selbst – schwer berechnen lassen.

Grundsätzlich hängt die Ansteckungsfähigkeit von der Menge replikationsfähiger Viruspartikel in übertragungsrelevanten Ausscheidungen ab.

Aussagekraft unterschiedlicher Virusnachweisverfahren

Als Goldstandard der Virusdiagnostik kann die PCR-Untersuchung mit hoher Präzision und niedrigen Nachweisgrenzen für genomische SARS-CoV-2-RNA in klinischen Proben gelten. Der Nachweis des SARS-CoV-2-Genoms stellt allerdings keinen unmittelbaren Beleg der Ansteckungsfähigkeit eines Patienten dar, da nicht jedes Genom repräsentativ für ein infektiöses Viruspartikel ist. *In-vitro*-Daten weisen auf ein Verhältnis von 10 : 1 bis 100 : 1 zwischen genomischer RNA und infektiösen Viruspartikeln hin.

In klinischen Proben können infektiöse Viruspartikel durch Virusvermehrung in der Zellkultur nachgewiesen werden. Der Erfolg einer Anzucht ist abhängig von der Virusmenge. Die Anzüchtbarkeit des Virus aus Probenmaterial der Atemwege gilt als gegenwärtig beste Näherung für die Einschätzung einer Ansteckungsfähigkeit. Der Nachweis von Viruswachstum in Zellkultur ist methodisch jedoch aufwendig, dauert mehrere Tage und erfordert für SARS-CoV-2 in Deutschland ein Labor der biologischen Sicherheitsstufe 3.

Es konnte beobachtet werden, dass bei Patienten ohne bekannte Immunsuppression noch Wochen nach Symptombeginn geringe Mengen Virusgenom in Proben aus den Atemwegen nachweisbar sind. Bisherige Studien deuten darauf hin, dass diese in der Regel geringen Genomlasten (unter Berücksichtigung von analytischen und präanalytischen Details Ct-Werte >30 entsprechend 250 Genomkopien/ml RNA-Eluat, siehe [separate Text-Box](#)) nicht mit einer Anzüchtbarkeit von SARS-CoV-2 in Zellkultur korrelieren.

Darüber hinaus gibt es Überlegungen, bei Verfügbarkeit geeigneter Tests, Antigen-Nachweisverfahren zu verwenden, um die Ansteckungsfähigkeit auf

Wie gut ist ein SARS-CoV-2 Testresultat?



Projektgruppe Wissenschaftskommunikation (WiKo)

ROBERT KOCH INSTITUT



Wie viele von 10,000 Menschen sind tatsächlich mit dem Coronavirus infiziert? (Prävalenz)

Sensitivität: Bei wie viel % der Infizierten wird die Infektion erkannt?

Sensitivität (in %)

Spezifität: Bei wie viel % der Nicht-Infizierten wird die Infektion ausgeschlossen?

Spezifität (in %)

Effektive Teststrategien stehen im Zentrum der Bekämpfung von SARS-CoV-2. Für den Virusnachweis werden eine Vielzahl von Antigen-Schnelltests angeboten. Diese basieren auf dem Nachweis von viralem Protein in Abstrichen aus den Atemwegen. Antigen-Schnelltest können schneller durchgeführt werden als PCR-Tests, mit denen standardmäßig getestet wird. Im Vergleich zu PCR erkennen diese Schnelltests jedoch sowohl infizierte Personen schlechter (niedrigere Sensitivität) als auch nicht-infizierte Personen schlechter (niedrigere Spezifität).

Aufgrund ihrer schnellen Durchführbarkeit ohne Laborbeteiligung sieht die Nationale Teststrategie einen ergänzenden Einsatz der Schnelltests dennoch vor. Alle derzeit erhältlichen Antigen-Schnelltests müssen von medizinischem Personal durchgeführt werden.

Die Aussagekraft von Antigen-Schnelltests hängt stark vom Anteil der Infizierten unter den getesteten Personen ab (Prävalenz). Wenn nur wenige der Getesteten tatsächlich infiziert sind, dann ist ein positives Testresultat sehr wahrscheinlich falsch positiv. Wenn unter den Getesteten allerdings viele Personen infiziert sind, dann sind positive Testresultate zuverlässiger.

Hinweise zur Nutzung des Tools

Die Berechnungen des Tools können für PCR Tests und für Antigentests genutzt werden. Der PCR Test gilt als Goldstandard mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils ca. 99.9%. Der Antigentest erreicht eine Sensitivität von 80% und eine Spezifität von 98%. Diese Werte hängen jedoch stark von weiteren Variablen

ab (Testzeitpunkt; Basisrate bzw. Prävalenz der Infektionen innerhalb der Getesteten).

Tabellen Baumdiagramm Waffelplot

	Status	Test	Anzahl
1	infiziert	richtig positiv	80 aus 10 000 Getesteten
2	infiziert	falsch negativ	20 aus 10 000 Getesteten
3	nicht infiziert	richtig negativ	9702 aus 10 000 Getesteten
4	nicht infiziert	falsch positiv	198 aus 10 000 Getesteten

Kennzahlen

Positiver Vorhersagewert: Eine Person hat ein positives Testergebnis. Wie wahrscheinlich ist sie tatsächlich infiziert?

Negativer Vorhersagewert: Eine Person hat ein negatives Testergebnis. Wie wahrscheinlich ist sie tatsächlich nicht infiziert?

	Kennzahl	Wert
1	Positiver Vorhersagewert	28.78 %
2	Negativer Vorhersagewert	99.79 %

Sowohl der positive Vorhersagewert als auch der negative Vorhersagewert sind jeweils auf zwei Nachkommastellen gerundet.

A 4



World Health
Organization

WHO Information Notice for IVD Users

Nucleic acid testing (NAT) technologies that use real-time polymerase chain reaction (RT- PCR) for detection of SARS-CoV-2

14 December 2020 | Medical product alert | Geneva | Reading time: 2 min (554 words)

[Español](#)

Product type: Nucleic acid testing (NAT) technologies that use real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) for detection of SARS-CoV-2

Date: 7 December 2020

WHO-identifier: 2020/5, version 1

Purpose of this notice: To ensure users of certain nucleic acid testing (NAT) technologies are aware of certain aspects of the instructions for use (IFU) for all products.

Description of the problem: WHO has received user feedback on an elevated risk for false SARS-CoV-2 results when testing specimens using RT-PCR reagents on open systems.

As with any diagnostic procedure, the positive and negative predictive values for the product in a given testing population are important to note. As the positivity rate for SARS-CoV-2 decreases, the positive predictive value also decreases. This means that the probability that a person who has a

positive result (SARS-CoV-2 detected) is truly infected with SARS-CoV-2 decreases as positivity rate decreases, irrespective of the assay specificity. Therefore, healthcare providers are encouraged to take into consideration testing results along with clinical signs and symptoms, confirmed status of any contacts, etc.

Users of RT-PCR reagents should read the IFU carefully to determine if manual adjustment of the PCR positivity threshold is necessary to account for any background noise which may lead to a specimen with a high cycle threshold (Ct) value result being interpreted as a positive result. The design principle of RT-PCR means that for patients with high levels of circulating virus (viral load), relatively few cycles will be needed to detect virus and so the Ct value will be low. Conversely, when specimens return a high Ct value, it means that many cycles were required to detect virus. In some circumstances, the distinction between background noise and actual presence of the target virus is difficult to ascertain. Thus, the IFU will state how to interpret specimens at or near the limit for PCR positivity. In some cases, the IFU will state that the cut-off should be manually adjusted to ensure that specimens with high Ct values are not incorrectly assigned SARS-CoV-2 detected due to background noise.

Manufacturers regularly review the design of their product, including labelling and IFU based on customer feedback. In the early phases of the COVID-19 pandemic, in vitro diagnostics (IVDs) were rapidly developed, validated and verified, and then rolled out. Therefore, it is not unexpected that IVDs may require refinement based on user feedback after their introduction at scale. Users should verify the version of the IFU with each consignment they receive to see if any changes have been made to the IFU.

Advice on action to be taken by users:

1. Please read carefully the IFU in its entirety.
2. Contact your local representative if there is any aspect of the IFU that is unclear to you.
3. Check the IFU for each incoming consignment to detect any changes to the IFU.
4. Consider any positive result (SARS-CoV-2 detected) or negative results (SARS-CoV-2 not detected) in combination with specimen type, clinical observations, patient history, and epidemiological information.
5. Provide the Ct value in the report to the requesting healthcare provider.

Transmission of this WHO Information Notice for Users:

Please disseminate this notice to all those who need to be aware within your organization or to any organization where the potentially affected product has been deployed and used.

Contact person for further information:

17.12.2020

WHO Information Notice for IVD Users

Anita SANDS, Regulation and Prequalification, World Health Organization, e-mail: sandsa@who.int

-

Subscribe to our newsletters →



WHO Information Notice for IVD Users 2020/05

Nucleic acid testing (NAT) technologies that use polymerase chain reaction (PCR) for detection of SARS-CoV-2

20 January 2021 | Medical product alert | Geneva | Reading time: 1 min (370 words)

[Français](#)

[Español](#)

Product type: Nucleic acid testing (NAT) technologies that use polymerase chain reaction (PCR) for detection of SARS-CoV-2

Date: 13 January 2021

WHO-identifier: 2020/5, version 2

Target audience: laboratory professionals and users of IVDs.

Purpose of this notice: clarify information previously provided by WHO. This notice supersedes WHO Information Notice for In Vitro Diagnostic Medical Device (IVD) Users 2020/05 version 1, issued 14 December 2020.

Description of the problem: WHO requests users to follow the instructions for use (IFU) when interpreting results for specimens tested using PCR methodology.

Users of IVDs must read and follow the IFU carefully to determine if manual adjustment of the PCR positivity threshold is recommended by the manufacturer.

WHO guidance Diagnostic testing for SARS-CoV-2 states that careful interpretation of weak positive results is needed (1). The cycle threshold (Ct) needed to detect virus is inversely proportional to the patient's viral load. Where test results do not correspond with the clinical presentation, a new specimen should be taken and retested using the same or different NAT technology.

WHO reminds IVD users that disease prevalence alters the predictive value of test results; as disease prevalence decreases, the risk of false positive increases (2). This means that the probability that a person who has a positive result (SARS-CoV-2 detected) is truly infected with SARS-CoV-2 decreases as prevalence decreases, irrespective of the claimed specificity.

Most PCR assays are indicated as an aid for diagnosis, therefore, health care providers must consider any result in combination with timing of sampling, specimen type, assay specifics, clinical observations, patient history, confirmed status of any contacts, and epidemiological information.

Actions to be taken by IVD users:

1. Please read carefully the IFU in its entirety.
2. Contact your local representative if there is any aspect of the IFU that is unclear to you.
3. Check the IFU for each incoming consignment to detect any changes to the IFU.
4. Provide the Ct value in the report to the requesting health care provider.

Contact person for further information:

Anita SANDS, Regulation and Prequalification, World Health Organization, e-mail: rapidalert@who.int

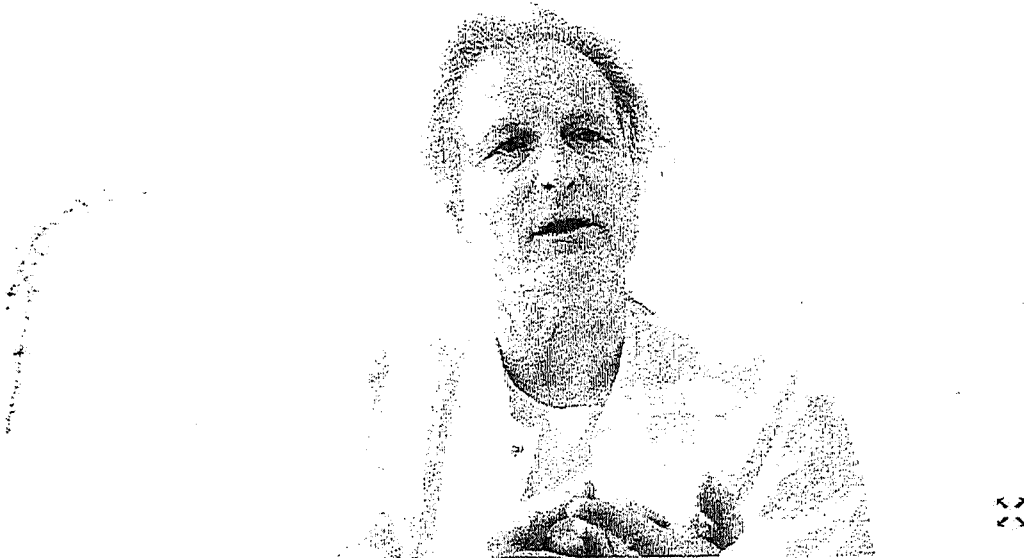
References:

1. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Geneva: World Health Organization; 2020, WHO reference number WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.6.
2. Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests 2: Predictive values. *BMJ*. 1994 Jul 9;309(6947):102. doi: 10.1136/bmj.309.6947.102.

Subscribe to our newsletters →

Corona-Test (PCR): Hersteller Olfert Landt wünscht sich „mehr Mut“ vom Robert Koch-Institut (RKI)

Olfert Landt ist Geschäftsführer der Firma TIB Molbiol, die die PCR-Tests herstellt – aktuell bis zu zwei Millionen Tests pro Woche. Unsere Zeitung hat mit dem Berliner Unternehmer gesprochen und ihn mit den Vorwürfen Reiner Füllmichs konfrontiert. Landt sagt, er kenne den Göttinger Anwalt nicht, habe aber eines seiner Coronavirus-Videos gesehen. In den Videos, die auf YouTube zu sehen sind, spricht der Füllmich über seine Einschätzung der Corona-Pandemie. Die Ausführungen zum Thema PCR bezeichnet Olfert Landt als „Quatsch“.



Laut Olfert Landt, dessen Unternehmen PCR-Tests herstellt, sind nur etwa die Hälfte der Corona-Infizierten ansteckend. © imago images / tagesspiegel

Coronavirus: Olfert Landt spricht über Arbeit mit Christian Drosten

„Es besteht ja diese diese krude Theorie, dass immer dieselben Leute zusammenarbeiten und Pandemien ausrufen“, sagt Landt im Gespräch mit **er**er Zeitung. Dass in „schwierigen Situationen“ häufig dieselben Personen kooperierten, liege aber daran, „dass das eben die Fachleute

vergleiche, was die Lufthansa am Tag verliert, dann kann das nicht der Sinn eines Plans sein. Dass solche Mythen Früchte tragen, das erschüttert mich“, so der Berliner.

Corona-Tests: Zweifel an PCR-Methode seien eine Anmaßung

Ähnlich entschieden stellt er sich Kritikern des PCR-Testverfahrens entgegen. Dieses anzuzweifeln hält Olfert Landt für eine Anmaßung. „Es wird ja die ganze Methode PCR diskreditiert. Es hat vor 37 Jahren einen Nobelpreis dafür gegeben. Seitdem wir seit Mitte der 90er Jahre PCR-basiert Blutspenden untersuchen, hat es so gut wie keine HIV-, HBV- und HCV-Fälle mehr im Blutspende-Wesen gegeben.“ Das liege daran, dass die PCR-Methode „so sensitiv und grundsätzlich gut“ sei.

PCR-Test



Beim Corona-Test wird Substanz von der Schleimhaut des Patienten entnommen, meist aus dem Rachen. Darin wird nach Viren gesucht. Weil die Mengen zum Nachweis zu klein sind, wird die Erbsubstanz der Viren vervielfältigt – und zwar mit der Polymerase-Kettenreaktion (englisch: polymerase chain reaction (PCR)). Die Anzahl der Zyklen sagt also aus, wie oft die Erbsubstanz verdoppelt wurde. Zehn Kopien sind üblicherweise nach 36 Zyklen sichtbar. Die erreichbare Nachweisgrenze liegt im Bereich von einer bis zehn Kopien.

Die Debatte um den PCR-Test wird vor allem deshalb so hitzig geführt, weil Zweifler behaupten, der Test würde zu viele sogenannte Zyklen durchlaufen. **Anwalt Reiner Füllmich** etwa sagt: „In Deutschland werden offensichtlich alle Tests durch sehr viele Zyklen auf hohe Werte getrimmt, um möglichst viele positive Ergebnisse hervorzubringen. Selbst genetische Bestandteile einer früheren Grippe können zu einem positiven Ergebnis führen.“ Für Olfert Landt ist diese Behauptung Füllmichs „Quatsch“. Landt betont: „Sie können bei einer negativen PCR 100 Zyklen machen, und die bleibt dann auch negativ.“ Es gebe keine verbleibenden zirkulierenden Viren, weswegen falsch positive PCR-Testergebnisse ausgeschlossen seien.

„Etwa die Hälfte der Corona-Infizierten nicht infektiös“ - Landt fordert mehr Mut

- Anzeige -


In einem Punkt scheinen **Olfert Landt** und **Reiner Füllmich** aber einig zu sein: Nicht jede positiv auf das Coronavirus getestete **Person** ist auch ansteckend. „Wir wissen, dass **Leute** mit einer geringen Viruslast nicht infektiös sind“, sagt **Landt**. Der **Hersteller** der PCR-Tests glaubt, dass schätzungsweise die Hälfte aller positiv getesteten Personen nicht infektiös seien. Um gefährlich für Dritte zu sein, müsse man „100-mal mehr Viruslast in sich tragen als die Nachweisgrenze der Tests“.

Robert Koch-Institut 
@rki_de 

Alles Wichtige zu #COVID19 für Fachöffentlichkeit unter [rki.de/covid-19](https://www.rki.de/covid-19), u.a. mit

- Steckbrief (Übertragung, Inkubationszeit, Verlauf uvm)
- Tägl. Situationsberichte (deutsch & englisch)
- Fallzahlen
- FAQ
- Labordiagnostik
- Infektionsschutz

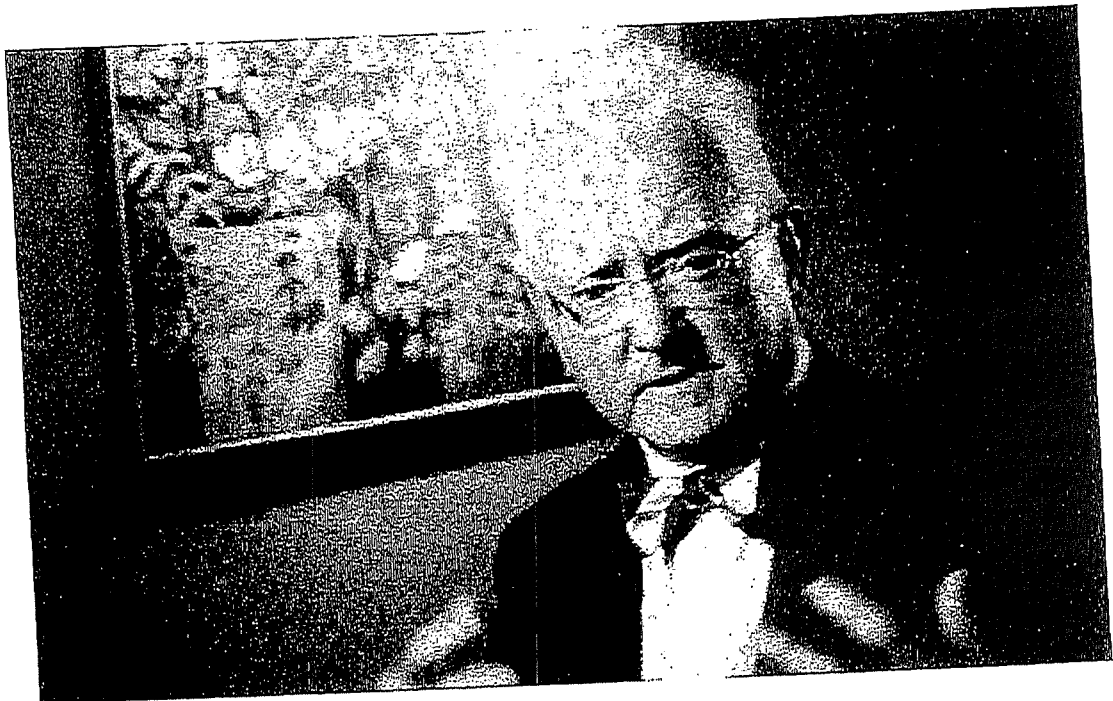
#SARSCoV2 #AHA





Vitalstoff.Blog

Das Blog über Prävention und Mikronährstoffe



»Die Panik um Covid ist der größte Schwindel«

Dr. Roger Hodkinson ist ein erfahrener Pathologe und Labormediziner. Ausgebildet in Cambridge hat er lange Jahre als Chef der Ärztekammer in der Provinz Alberta (Kanada) gedient. Im Rahmen einer öffentlichen Anhörung der Verwaltung in Edmonton am 13. November zur Covid-Krise hat Dr. Hodkinson ein Statement abgegeben, welches aktuell hohe Wellen in der englischsprachigen Öffentlichkeit schlägt, nachdem ein Mitschnitt seines Statements vor dem Sozialausschuss in einer insgesamt neunstündigen Zoom-

18.1.2021

»Die Panik um Covid ist der größte Schwindel« – Vitalstoff.Blog

Konferenz bekannt wurde. Wir dokumentieren seinen Beitrag in deutscher Übersetzung.

»Ich danke Ihnen vielmals. Ich weiß es zu schätzen, dass ich die Gelegenheit habe, in dieser sehr wichtigen Angelegenheit zu Ihnen zu sprechen. Was ich sagen werde, ist Laiensprache, und unverblümt. Es ist eine Art Gegendarstellung, und damit Sie mich nicht sofort für einen Quacksalber halten, werde ich meine Referenzen kurz umreißen, damit Sie verstehen können, woher ich in Bezug auf die Wissensbasis in all dem komme.

Mitschnitt des Statements vor Dr. Roger Hodkinson am 13.11.2020 vor dem Sozialausschuss in Edmonton/Kanada.

Ich bin Facharzt für Pathologie, wozu auch die Virologie gehört. Ich wurde an der Universität Cambridge in Großbritannien ausgebildet. Ich bin der Ex-Präsident der Pathologie-Sektion der Ärztekammer. Zuvor war ich Assistenzprofessor an der medizinischen Fakultät und habe viel gelehrt. Ich war Vorsitzender des Prüfungsausschusses für Pathologie am Royal College of Physicians of Canada in Ottawa, aber was noch wichtiger ist, ich bin derzeit Vorsitzender eines

18.1.2021

»Die Panik um Covid ist der größte Schwindel« – Vitalstoff.Blog

Biotechnologieunternehmens in North Carolina, das den COVID-19-Test verkauft. Und daher könnte man sagen, dass ich mich ein wenig mit all dem auskenne.

Die Quintessenz ist ganz einfach diese:

Es gibt eine völlig unbegründete öffentliche Hysterie, die von den Medien und Politikern angetrieben wird. Es ist empörend. Das ist der größte Schwindel, der je einer ahnungslosen Öffentlichkeit angetan wurde. Es gibt absolut nichts, was getan werden kann, um diesen Virus einzudämmen. Außer dem Schutz älterer, verletzlicherer Menschen. Man sollte es als das betrachten, was es ist: nichts anderes als eine schlimme Grippezeit.

Dies ist nicht Ebola. Es ist nicht SARS. Es ist Politik, die versucht, Medizin zu spielen. Und das ist ein sehr gefährliches Spiel! Es sind keinerlei Maßnahmen erforderlich, außer dem, was auch letztes Jahr gemacht wurde, als wir uns unwohl fühlten: Wir sind zu Hause geblieben, wir haben Hühnersuppe gegessen, wir sind nicht zur Oma gefahren, und wir waren es, die entschieden haben, wann wir wieder an die Arbeit gehen. Wir brauchten niemanden, der uns das sagen musste.

Masken sind völlig nutzlos. Es gibt keinerlei Beweise für ihre Wirksamkeit. Papiermasken und Stoffmasken sind schlicht und einfach ein Tugendsignal. Sie werden die meiste Zeit nicht einmal effektiv getragen. Das ist völlig lächerlich, diese traurigen, ungebildeten Menschen zu sehen – ich meine das nicht im abwertenden Sinne –, diese Menschen wie Lemminge herumlaufen zu sehen, die ohne jede Wissensbasis gehorchen, um sich die Maske aufs Gesicht zu setzen.

Eine soziale Distanzierung ist auch deshalb nutzlos, weil Covid durch Aerosole verbreitet wird, die sich etwa 30 Meter ausbreiten, bevor sie zu Boden sinken. Lockdown-Maßnahmen haben solch schreckliche unbeabsichtigte Folgen. Der Lockdown sollte morgen sofort aufgehoben werden, so wie es auch in der Erklärung von Great Barrington steht, die ich vor diesem Treffen verteilt habe.

Und ein Wort zu den Tests: Ich möchte betonen, dass es sich hier um mein berufliches Geschäft handelt. Ich möchte betonen, dass positive Testergebnisse keine, ich wiederhole: keine klinische Infektion bedeuten! Der Test treibt lediglich die öffentliche Hysterie an. Das Testen muss sofort aufhören, außer für Menschen, die mit Atemwegsproblemen ins Krankenhaus kommen!

Alles, was getan werden sollte, ist, die Schwachen zu schützen und ihnen allen in den Pflegeheimen, die Sie beaufsichtigen, täglich 3000 bis 5000 internationale

18.1.2021

»Die Panik um Covid ist der größte Schwindel« – Vitalstoff.Blog

Einheiten Vitamin D zu verabreichen, was die Wahrscheinlichkeit einer Infektion nachweislich radikal verringert.

Und ich möchte Sie alle daran erinnern, dass nach den eigenen Statistiken der Provinz (Alberta; Kanada) das Risiko, unter 65 Jahren zu sterben, hier in dieser Provinz bei 1:300.000 liegt. Eins zu 300.000.

Sie müssen kapieren: Das Ausmaß der Maßnahmen, die Sie ohne jegliche wissenschaftliche Evidenz ergriffen haben, ist angesichts der Konsequenzen, die sich aus dem von Ihnen vorgeschlagenen Vorgehen ergeben, völlig lächerlich. Alles von Selbstmorden, Geschäftsschließungen, Beerdigungen, Hochzeiten usw. – es ist einfach unglaublich!

Es ist nur eine weitere schlimme Grippe, und Sie müssen sich damit abfinden. Lassen Sie die Leute ihre eigenen Entscheidungen treffen. Die Politik sollte sich völlig aus dem medizinischen Geschäft heraushalten. Sie werden vom Chefarzt der Gesundheitsbehörde dieser Provinz in die Irre geführt. Ich bin absolut empört darüber, dass es soweit kommen konnte. Es sollte schon morgen alles aufhören!

Ich danke Ihnen vielmals.«

Übersetzung aus dem Englischen: Uwe Alschner

In einem persönlichen Telefonat mit Dr. Hodkinson habe ich am 19.11.2020 verifiziert, dass die Aufnahme tatsächlich sein Statement vor dem Ausschuss wiedergibt. Ergänzend fügte Dr. Hodkinson hinzu, dass er Morddrohungen erhalten habe: „Ich hatte keine Ahnung, dass die Sitzung aufgezeichnet wird. Ich suche keine Aufmerksamkeit, aber ich nehme meine medizinethische Ausbildung ernst: »Schade niemandem« lautet das oberste Gebot eines jeden Arztes. Wenn ich nun schweigen würde, träfe mich eine Mitschuld daran, dass unzählige Menschen unnötig leiden, weil die Maßnahmen nichts bringen, um dieses Virus einzudämmen. Glücklicherweise ist es weniger schlimm als befürchtet, denn unsere Gesundheitssysteme waren nicht vorbereitet. Die harten Maßnahmen, welche Politiker auf der ganzen Welt getroffen haben, sollen davon ablenken.“

A8



Leopoldina
Nationale Akademie
der Wissenschaften

6. Ad-hoc-Stellungnahme – 23. September 2020

Coronavirus-Pandemie: Wirksame Regeln für Herbst und Winter aufstellen

Kurzfassung

Die Zahl der täglich gemeldeten Neuinfektionen mit SARS-CoV-2 steigt seit Ende Juli in Deutschland wieder an. Noch deutlicher zeigt sich diese Entwicklung in anderen europäischen Ländern (z. B. Frankreich, Spanien, Niederlande, Österreich) oder in Israel, wo die Zahlen teilweise schon jetzt über dem Stand von Ende März 2020 liegen. Um der Gefahr einer auch in Deutschland wieder schwerer zu kontrollierenden Entwicklung der Pandemie rechtzeitig zu begegnen, ist es dringend notwendig, dass sich die Verantwortlichen in Bund und Ländern rasch auf bundesweit verbindliche, wirksame und einheitliche Regeln für das Inkrafttreten von Vorsorgemaßnahmen einigen und diese konsequenter als bisher um- und durchsetzen.

Die Herausforderung, die Pandemie unter Kontrolle zu halten, wird zudem größer in Anbetracht sinkender Temperaturen, der Verlagerung von Gruppenaktivitäten in Innenräume, der anstehenden Herbst- und Weihnachtsferien sowie vermehrter sozialer Aktivitäten in der Advents- und Weihnachtszeit. Mit der beginnenden Erkältungs- und Influenzasaison wird das Gesundheitssystem stärker beansprucht; zudem wird sich häufiger das Problem stellen, Infektionen mit SARS-CoV-2 von symptomähnlichen Erkrankungen zu unterscheiden. Ein wirksamer Impfstoff wird auch nach optimistischer Einschätzung nicht vor dem Frühjahr 2021 in ausreichenden Mengen zur Verfügung stehen und könnte erst dann sukzessive nach einem noch festzulegenden Verteilungsplan flächendeckend zum Einsatz kommen. Auch die Wirksamkeit medikamentöser Therapien ist bisher begrenzt.

Ziel der Vorsorgemaßnahmen sollte es sein, das öffentliche und wirtschaftliche Leben in den kommenden Monaten so weit wie möglich aufrechtzuerhalten. Bei allen anstehenden politischen Entscheidungen wird es noch wichtiger sein als bisher, ihre ökonomischen, sozialen und psychischen Folgen, aber auch die Folgen für das Gesundheitssystem, bestmöglich zu klären und abzuwägen, sie transparent zu kommunizieren und gut zu begründen sowie bestehende Grenzen des Wissens über die Pandemie und Unsicherheiten in der Einschätzung ihrer Entwicklung klar zu benennen.

Vor diesem Hintergrund empfiehlt die Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina:

1. Schutzmaßnahmen konsequent einhalten:

Das Einhalten der bekannten Schutzmaßnahmen, vor allem der AHA-Regeln (Abstandhalten, Hygiene, Alltagsmaske/Mund-Nasen-Schutz), und ein regelmäßiger Luftaustausch (ggf. unterstützt durch Hochleistungsluftfiltersysteme) in Räumen sind nach wie vor die wichtigsten, effektivsten, einfachsten und kostengünstigsten Mittel, um die Pandemie unter Kontrolle zu halten. Mit Blick auf eine mögliche angespannte Situation im Herbst und Winter sollten bundesweit einheitliche Regeln und Eskalationsstufen für Schutzmaßnahmen definiert werden, die je nach regionalem Infektionsgeschehen greifen. Sie müssen regelmäßig überprüft und ggf. angepasst werden. Von zentraler Bedeutung ist das verbindliche Tragen eines Mund-Nasen-Schutzes in allen Innenräumen, falls Mindestabstand und häufiger Luftaustausch nicht gewährleistet sind – gerade auch vor dem Hintergrund vieler asymptomatischer, aber infektiöser Personen. Bei allen Schutzmaßnahmen gilt es, differenzierter als bislang die Rechte Betroffener, beispielsweise in Pflegeeinrichtungen, zu wahren und ihre sozialen Bedürfnisse angemessen zu berücksichtigen.

Infektionsschutzgesetzes (IfSG) die „Feststellung“ einer der in § 6 IfSG genannten Krankheiten (zu denen Covid-19 gehört) nur Ärztinnen und Ärzten. Die Zulassung derartiger Antigen-Schnelltests zur primären Identifikation infektiöser Menschen könnte eine signifikante Erleichterung bewirken, wiewohl ihre Sensitivität und Spezifität gegenüber PCR-Tests deutlich verringert sind. Zugang und Anwendung der Tests (in Apotheken und Arztpraxen) sowie die Konsequenzen eines positiven Testergebnisses müssten im Verordnungswege geregelt werden. Hierzu gehört auch die Umsetzung der Meldepflicht.

Ziel muss es sein, die Zeit zwischen Test und Ergebnis weiter zu verkürzen und insbesondere die Infektiosität zu erfassen, da sich hierauf die Notwendigkeit von Isolationsmaßnahmen begründet. Es dauert im Mittel ab der Infektion mit dem Virus 2 Tage, bis diese nachgewiesen werden kann, und 5 Tage, bis erste Symptome auftreten. Die infektiöse Phase beginnt in der Regel 2 - 3 Tage vor Symptombeginn und endet etwa 7 Tage danach.

Bei einem bestätigten Befund ließe sich die vorgeschriebene Isolationszeit also auf etwa eine Woche verkürzen. Zur Abschätzung der verbleibenden Infektiosität können PCR/Viruslast-Kriterien genutzt werden. Auch die Quarantänezeit von Personen, die einem hohen Infektionsrisiko ausgesetzt waren (Kategorie-I-Kontakte, beispielsweise Kontakt mit einer nachweislich infizierten Person oder Aufenthalt in einem Risikogebiet), ließe sich nach neueren Schätzungen von 14 auf 10 Tage reduzieren. Beide Maßnahmen können negative Auswirkungen für Einzelne, Familienangehörige sowie Wirtschaft und Gesellschaft verringern.

Personengruppen und Wohnungskonstellationen, in denen es leichter und in größerem Ausmaß zu Infektionen kommen kann, wie in Pflege- und Gemeinschaftseinrichtungen, sollten prioritär getestet werden. Für Mitarbeitende in besonders exponierten Berufsgruppen sollte ein gut zugängliches Test- und Beratungsangebot vorgehalten werden.

Box 2: Verfügbare Testsysteme für SARS-CoV-2

1. **PCR-Tests** weisen in der Regel in einem Abstrich aus dem Mund-, Nasen- oder Rachenraum das Erbgut (RNA) der Viren durch eine etwa 2,5 – 5h andauernde biochemische Reaktion (RT-PCR) im Labor nach. Es werden Tests unterschiedlicher Hersteller mit unterschiedlichen Zielgenen verwendet, die jedoch alle hinsichtlich ihrer analytischen und klinischen Aussagekraft validiert sind. Der Nachweis von Virus-RNA durch die RT-PCR ist gleichbedeutend mit einer Infektion der positiv getesteten Person. Eine Verwechslung von SARS-CoV-2-spezifischer RNA mit RNA anderer Viren (auch anderer Coronaviren) ist bei allen verwendeten Tests ausgeschlossen. Auch eine Verwechslung mit körpereigener RNA ist ausgeschlossen. Die Quote von falsch positiven Testergebnissen in der diagnostischen RT-PCR Testung ist erheblich geringer als anhand der bloßen technischen Spezifitätsdaten einzelner RT-PCR Tests angegeben, da initial positive Ergebnisse stets einer Bestätigungstestung unterzogen werden. Hierzu gehört die Testung auf weitere Zielgene, die Wiederholungstestung der selben oder einer nachgeforderten Patientenprobe, die Differentialtestung auf andere symptomkompatible Krankheitserreger sowie die diagnostische Einbeziehung weiterer Laborparameter, insbesondere Antikörperresultate. Alternativformate zur RT-PCR Testung (Bsp.: „RT-LAMP“) wurden entwickelt und befinden sich auf dem Wege der Zulassung. Es werden durch alternative laborbasierte Testformate aber keine Beschleunigungen oder Effizienzsteigerungen in der Labordiagnostik erwartet, da die tatsächlichen Herausforderungen im Labor in der Probenlogistik, der Prä-Analytik, der Befundvalidierung und der Befundkommunikation liegen. Daran ändert auch die Verwendung anderer molekularer Testtechniken nichts.

2. **Antikörpertests** weisen in der Regel im Blut Antikörper nach, die SARS-CoV-2 binden. Auch bei diesen Tests übersteigen die logistischen, prä- und postanalytischen Notwendigkeiten erheblich die Zeit der eigent-



**Anwälte bitten die Mitglieder der Leopoldina
- Nationale Akademie der Wissenschaften -
um eidesstattliche Versicherung**

4. Offener Brief der Anwälte für Aufklärung

**An die mitwirkenden Professorinnen und Professoren der
Arbeitsgruppe der 6. Ad-hoc-Stellungnahme
zur Coronavirus-Pandemie vom 23. September 2020**

Sehr geehrte Damen und Herren Professores,

derzeit befinden sich hunderttausende (meist gesunde) Menschen in „häuslicher Absonderung“, darunter etwa 200.000 gesunde Schulkinder. Die entsprechenden Quarantäne-Anordnungen basieren auf dem sogenannten PCR-Test. Personen mit einem Positivtest werden vom RKI und von der Regierung als sogenannte „Infizierte“ und damit als Ansteckungsverdächtige angesehen. Sie sollen sich daher nach Anordnung durch das Gesundheitsamt der Quarantäne-Anordnung fügen, andernfalls wird eine Geldbuße oder gar eine Freiheitsstrafe angedroht. Angedroht wird alternativ die mit Polizeieinsatz verbundene Unterbringung in einer geschlossenen Einrichtung (z.B. Psychiatrie oder Gefängnis). Dies sind Maßnahmen, die die Bürgerinnen und Bürger der Bundesrepublik Deutschland noch nie erlebt haben.

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

Nun zu unserem Anliegen: Es gibt eine Vielzahl von Stimmen, die behaupten, der PCR-Test könne keine Infektion nachweisen und sei hierzu auch nicht gedacht. Wir erlauben uns, nachfolgend einige dieser Ansichten vorzustellen.

- **Aussage von Prof. Christian Drosten, einem der Entwickler des Sars-Cov2-PCR-Tests:**

Ja, aber die Methode ist so empfindlich, dass sie ein einzelnes Erbmolekül dieses Virus nachweisen kann. Wenn ein solcher Erreger zum Beispiel bei einer Krankenschwester mal eben einen Tag lang über die Nasenschleimhaut huscht, ohne dass sie erkrankt oder sonst irgend etwas davon bemerkt, dann ist sie plötzlich ein Mers-Fall. Wo zuvor Todkranke gemeldet wurden, sind nun plötzlich milde Fälle und Menschen, die eigentlich kerngesund sind, in der Meldestatistik enthalten. Auch so ließe sich die Explosion der Fallzahlen in Saudi-Arabien erklären. Dazu kommt, dass die Medien vor Ort die Sache unglaublich hoch gekocht haben.

Interview in der Wirtschaftswoche vom 14.5.2014, damals zu Mers

- **Aussage von Kary Mullis, Biochemiker, erhielt 1993 den Nobelpreis für Chemie gemeinsam mit Michael Smith für die Entwicklung des PCR-Tests:**

Der PCR-Test erlaubt dir, eine winzige Menge von Irgendetwas zu nehmen, dies messbar zu machen und dann es so darzustellen, als ob es wichtig wäre. Das ist eine falsche Interpretation. Der Test sagt nicht aus, ob man krank ist oder ob das, was „gefunden“ wurde, dir wirklich schaden würde.

https://www.youtube.com/watch?v=p_cMF_s-fzc

- **Aussage von Dr. Mike Yeadon, ehemals Wissenschaftsvorstand der Firma Pfizer:**

Die alleinige Verwendung eines PCR-Tests sagt nichts über das Vorhandensein einer Infektion aus. Der aktuelle Umgang mit PCR-Tests ist nicht geeignet, korrekte Ergebnisse hervorzubringen. Die positiven Testergebnisse sind nahezu zur Gänze falsch. Das ist Betrug. Dagegen muss geklagt werden.

<https://www.wochenblick.at/pfizer-vize-bekraeftigt-pcr-test-alleine-sagt-nichts-ueber-infektion-aus/>

Anwaiter für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

- **Aussage von Prof. Dr. Sucharid Bhakdi**, Facharzt für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie:

Auf die Behauptung des Schweizer Bundesamtes für Gesundheit und Swissmedic zur aktuellen COVID 19 Testung: „Mit dieser sehr empfindlichen Methode wird in Patientenproben spezifisch die Nukleinsäure eines Erregers nachgewiesen, was eine Infektion mit dem Erreger belegt.“ erwidert Prof. Bhakdi: „Das stimmt nicht. Auf gar keinen Fall. Das ist eine Lüge.“

<https://www.wochenblick.at/pfizer-vize-bekraeftigt-pcr-test-alleine-sagt-nichts-ueber-infektion-aus/>

- **Aussage von Prof. Dr. rer. hum. biol. Ulrike Kämmerer**, Universität Würzburg, Spezialgebiete Virologie und Immunologie

Der PCR-Test zeigt nur die Nukleinsäuren an, NICHT das Virus, er kann KEINE Infektion nachweisen. Der PCR-Test kann NICHT nachweisen, ob das Virus replikationsfahig ist, sich in dem Wirt tatsächlich vermehrt und ob der Mensch damit ursächlich krank wird.

Wenn beim PCR-Test auf der Oberfläche des Abstrichs diese Virus RNA ist, heisst das noch nicht, dass es in den Zellen drin ist und ob eine intakte vermehrungsfähige Viruslast vorhanden ist.“

<https://www.mimikama.at/aktuelles/pcr-test-coronavirus-nachweisen/>
<https://www.youtube.com/watch?v=Ymer59vTrSA>

- **Aussage von Prof. Dr. med. René Gottschalk**, Facharzt für öffentliches Gesundheitswesen, seit 2011 Leiter des Gesundheitsamtes in Frankfurt:

Bei niedriger Prävalenz in der Bevölkerung und umfangreicher Testung von asymptomatischen Personen wird man selbst bei angenommener hoher Sensitivität und Spezifität des Tests falsch positive Befunde erhalten. Der PCR-Test detektiert Genabschnitte von SARS-CoV2; er sagt nichts darüber aus, ob es sich um infektionsfahige Viren oder um Virusreste nach durchgemachter Infektion handelt.

<https://www.aerzteblatt.de/studieren/forum/137821>

- **Aussage des Abgeordnetenhauses Berlin** auf die schriftliche Anfrage des Abgeordneten Marcel Luthke:

„Soweit es auf das Vorhandensein „vermehrungsfähiger Viren“ ankommt: ist ein sogenannter PCR-Test in der Lage, zwischen einem „vermehrungsfähigen“ und

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

einem „nicht-vermehrungsfähigen“ Virus zu unterscheiden?“ *Schriftliche Antwort des Abgeordnetenhauses: „Nein“.*

Antwort des Abgeordnetenhauses Berlin vom 30.10.2020, Drucksache 18/25 212

- **Auszug aus der Packungsbeilage des cobas SARS CoV 2 PCR-Tests:**

Zur Anwendung bei Patienten mit Anzeichen und Symptomen einer möglichen COVID-19-Erkrankung (z.B. Fieber und/oder andere Symptome akuter Atemwegserkrankungen). Positive Ergebnisse deuten auf das Vorhandensein von SARS-CoV2 RNA hin, aber nicht unbedingt auf das Vorliegen eines übertragbaren Virus.

Zur Bestimmung des Patienteninfektionsstatus müssen sie in klinischer Korrelation zur Anamnese des Patienten und sonstigen diagnostischen Informationen gesehen werden. Positive Ergebnisse schließen eine bakterielle Infektion oder Koinfektion mit anderen Viren nicht aus. Der nachgewiesene Erreger ist eventuell nicht die definitive Ursache der Erkrankung.

Die Haltung der Gerichte

All diese Aussagen ließen die Gerichte unbeeindruckt.

Zwischenzeitlich wurde die u. a. von **Prof. Corman und Prof. Drosten** am 23. Januar 2020 in der Plattform Eurosurveillance veröffentlichte „Studie zur Erkennung des Coronavirus durch RT-PCR“ durch ein internationales Konsortium von Wissenschaftlern überprüft. Danach wies die Begutachtung des RT-PCR-Tests **10 wichtige wissenschaftliche Mängel auf molekularer und methodischer Ebene** auf (vgl. Corman-Drosten-Überprüfungsbericht v. 27. November 2020.)

Auch diese neue wissenschaftliche Studie über die angebliche Untauglichkeit des PCR-Tests zum Nachweis einer Infektion interessiert die Gerichte bislang leider nicht. Dies ist natürlich sehr frustrierend, wie Sie sich vorstellen können!

In der Zwischenzeit nehmen die Gerichte für den „Nachweis einer Infektion durch PCR-Test“ nicht mehr nur auf die Aussagen des Robert-Koch-Instituts Bezug. In einem aktuellen Beschluss des Verwaltungsgerichts München, in dem es um die Rechtmäßigkeit einer Quarantäne-Anordnung einer gesunden Schülerin ging, verwies das Gericht nun auch auf Ihre hochgeschätzte wissenschaftliche Aussage, die Sie als hochkarätige Mitglieder der **Leopoldina**, der **Nationalen Akademie der Wissenschaften** getätigt haben (vgl. VG München, ablehnender Beschluss vom 4. Dezember 2020 - M 26b S 20.6199: Quarantäneordnung wurde bestätigt, da der PCR-Test auch nach Aussage der Leopoldina eine akute Infektion nachweisen kann).

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

Ihre 6. Ad-hoc-Stellungnahme zur Corona-Pandemie

Sie haben in Ihrer 6. Ad-hoc-Stellungnahme vom 23. September 2020 auf Seite 6 geschrieben:

Der Nachweis von Virus-RNA durch die RT-PCR ist gleichbedeutend mit einer Infektion der positiv getesteten Person.

Wir Anwälte befinden uns nun in einem erheblichen Konflikt, da völlig konträre hochkarätige wissenschaftliche Meinungen vorliegen, die jedoch in hunderten von Gerichtsverfahren und in hunderttausenden von Quarantäne-Anordnungen eine ausschlaggebende Bedeutung haben: Kann der PCR-Test nun eine akute Infektion nachweisen oder kann er es nicht? Wie sollen wir unsere Mandanten gut beraten angesichts solcher erheblichen Differenzen ?

Wir Anwälte für Aufklärung sind freilich nur Juristen, keine Mediziner oder Virologen. Wir halten uns daher an die Vorgaben und rechtlichen Voraussetzungen des Infektionsschutzgesetzes und finden dort die folgenden Definitionen:

Ansteckungsverdächtig“ ist eine Person, von der anzunehmen ist, dass sie Krankheitserreger aufgenommen hat, ohne krank, krankheitsverdächtig oder Ausscheider zu sein, § 2 Nr. 7 IfSG.

Unter dem Begriff „**Krankheitserreger**“ versteht das Gesetz ein „vermehrungsfähiges“ Agens (Virus, Bakterium, Pilz, Parasit) oder ein sonstiges biologisches transmissibles Agens, das bei Menschen eine Infektion oder übertragbare Krankheit verursachen kann, § 2 Nr. IfSG.

Bitte um eidesstattliche Versicherung

Sehr geehrte Damen und Herren Professores!

Sie haben in Ihrer 6. Ad-hoc-Stellungnahme vom 23. September 2020 zwar 20 Literaturnachweise angegeben. Ein wissenschaftlicher Nachweis für Ihre Aussage „*Der Nachweis von Virus-RNA durch die RT-PCR ist gleichbedeutend mit einer Infektion der positiv getesteten Person*“ fehlt allerdings leider.

Wir Anwälte für Aufklärung möchten gerne weitere kostspielige und enttäuschende Prozesse für eine Vielzahl von betroffenen Personen vermeiden. Wir möchten insbesondere die durch Ihre Aussage hervorgerufene Verunsicherung bei Anwälten und Gerichten beseitigen. Wir möchten auch, dass die hunderttausendfachen beispiellosen Quarantäne-Anordnungen der Gesundheitsämter auf **rechtlichen sicheren Beinen**

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

stehen. Dies ist ganz sicherlich auch in Ihrem Interesse. Denn das Leitbild der Leopoldina ist unter anderem die „Beratung der Öffentlichkeit“.

Daher möchten wir Sie alle, die Sie Mitwirkende in der Arbeitsgruppe der 6. Ad-hoc-Stellungnahme waren, höflichst um Abgabe der folgenden Erklärung bitten:

Eidesstattliche Versicherung

In Kenntnis über die Bedeutung einer eidesstattlichen Versicherung als Mittel der Glaubhaftmachung tatsächlicher Angaben in einem geordneten Verfahren vor einer Behörde oder einem Gericht, wobei der Behörde oder dem Gericht vorbehalten ist, darüber zu entscheiden, ob und gegebenenfalls in welchem Umfang die Angaben zur Glaubhaftmachung geeignet sind, sowie belehrt über die strafrechtlichen Folgen einer vorsätzlichen oder fahrlässig falschen Abgabe einer eidesstattlichen Versicherung, insbesondere der Strafvorschriften der § 156 und § 161 Strafgesetzbuch (1 Jahr Freiheitsstrafe bei Abgabe einer fahrlässigen bzw. 3 Jahre bei Abgabe einer wissentlich falschen eidesstattlichen Versicherung) **versichere ich hiermit an Eides statt:**

Die seit März 2020 millionenfach durchgeführten PCR-Tests sind imstande, ein vermehrungsfähiges SARS-CoV2-Virus, also einen Krankheitserreger im Sinne des § 2 Nr. 1 IfSG und damit eine akute Infektion im Sinne des § 7 Abs. 1 S. 1 Nr. 44a IfSG nachzuweisen.

Prof. Dr. Ingo Autenrieth, Leitender Ärztlicher Direktor, Universitätsklinikum Heidelberg

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Katja Becker, Präsidentin der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bonn

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Stephan Becker, Institut für Virologie, Philipps-Universität Marburg

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Dirk Brockmann, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Theoretische Biologie

Datum und Unterschrift

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

Prof. Dr. Dr. Katharina Domschke, Direktorin der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie,
Universitätsklinikum Freiburg

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Christian Drost, Institut für Virologie, Charité Universitätsmedizin Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Ute Frevert, Max-Planck-Institut für Bildungsforschung, Forschungsbereich Geschichte
der Gefühle, Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Bärbel Friedrich, Mikrobiologin, ehem. Vizepräsidentin der Leopoldina

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Jutta Gärtner, Direktorin der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsmedizin
Göttingen

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Gerald Haug, Präsident der Leopoldina, Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Ralph Hertwig, Max-Planck-Institut für Bildungsforschung, Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Olaf Köller, Leibniz-Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften und
Mathematik, Kiel

Datum und Unterschrift

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

Prof. Dr. Thomas Krieg, Vizepräsident der Leopoldina; Medizinische Fakultät, Universität zu Köln

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Heyo K. Kroemer, Vorstandsvorsitzender der Charité Universitätsmedizin Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Christian Kurts, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Institut für Experimentelle Immunologie

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Johannes Lelieveld, Max-Planck-Institut für Chemie, Abt. Atmosphärenchemie, Mainz

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Christoph Marksches, designierter Präsident der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften; Theologische Fakultät, Humboldt-Universität zu Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Jutta Mata, Universität Mannheim, Lehrstuhl für Gesundheitspsychologie

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Reinhard Merkel, Universität Hamburg, Institut für Strafrecht / Seminar für Rechtsphilosophie

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Simone Scheithauer, Direktorin des Instituts für Krankenhaushygiene und Infektiologie, Universitätsmedizin Göttingen

Datum und Unterschrift

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

Prof. Dr. Britta Siegmund, Direktorin der Medizinischen Klinik für Gastroenterologie,
Infektiologie und Rheumatologie, Charité Universitätsmedizin Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Norbert Suttrop, Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und
Pneumologie, Charité Universitätsmedizin Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Felicitas Thiel, Arbeitsbereich Schulpädagogik/ Schulentwicklungsforschung, Freie
Universität Berlin

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Clemens Wendtner, Direktor der Klinik für Hämatologie, Onkologie, Immunologie,
Palliativmedizin, Infektiologie und Tropenmedizin, München Klinik Schwabing

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Claudia Wiesemann, Direktorin des Instituts für Ethik und Geschichte der Medizin,
Universitätsmedizin Göttingen

Datum und Unterschrift

Prof. Dr. Barbara Wollenberg, Direktorin der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und
Ohrenheilkunde, Klinikum rechts der Isar, München

Datum und Unterschrift

Anwälte für Aufklärung bitten Leopoldina um eidesstattliche Versicherung

Sehr geehrte Damen und Herren Professores!

Da erneut tausenden von Menschen eine Absonderung (Isolation / Quarantäne) droht, eventuell sogar in der Weihnachtszeit, bitten wir Sie um **ad-hoc-Rücksendung bis 19. Dezember 2020**.

Haben Sie schon jetzt besten Dank für Ihre Unterstützung!

Ihre Anwälte für Aufklärung

13. Dezember 2020

Karolin Ahrens	Luitwin Kiefer	Christiane Ringeisen
Beate Bahner	Dr. Christian Knoche	Alexander Roth
Christian Becker	Kirsten König	Kathrin Ruttloff
Jens Biermann	Michael Koslowski	Raymond Schäfer
Beate Bojcum	Helmut Krause	Dirk Sattelmeier
Elmar Brehm	Edgar R. Krein	Sabine Schebur
Kathrin Cetani	Ivan Künnemann	Regina Scherf
Thomas Doering	Ilka Lang-Seifert	Ludmila Schmidt
Daniel Ferber	Manuela Lenz-Maar	Karl Schmitz-Walter
Holger Fischer	Cornelia Letsche	Ute Sieben
Nicole Fleischmann	Ralf Ludwig	Gisa Tangermann
Rudolf Gebert	Gesa Mielcke	Diana Timpe
Dr. Andreas Grimm	Andreas Mildenberger	Olaf Treske
Henning C. Hacker	Christian Moser	Giray Tuna
Anna Hartmann	Ulrike Petersen	Edgar Überall
Susann Hüttinger	Gordon Pankalla	Oliver Völsing
Markus Haintz	Ulrike Petersen	Britta Werthmann
Rolf Karpenstein	Matthias Richter	Katja Wörmer

www.afa.zone

Die Krise - ein Überblick - 2. November 2020

Corona - Geschichte eines Test-Betrugs?

Juristen bereiten Haftungsklage gegen PCR-Tests auf internationaler Ebene vor – Ärzte kritisieren Lockdown – Rechtsgutachter spricht von Verfassungswidrigkeit

Weiter steigende Tests mit steigenden Fallzahlen, Angst vor den vielen Kranken: Die Bevölkerung erlebt ein erneutes Dauer-Bombardement von Panikmache und Verordnungen. Trotz vieler kritischer Stimmen und der Forderung nach einer wissenschaftlich fundierten Strategie wurde erneut ein Lockdown verhängt. Bürger fragen sich nach dem Sinn dieser zunehmend als blanke Willkür empfundenen Einschränkungen. Juristen fahren immer schärfere Geschütze auf.

Der PCR-Test, der die Grundlage darstellt für sämtliche Maßnahmen seit über sieben Monaten, hält wohl nicht, was er verspricht. Gestützt auf wissenschaftliche Aussagen, sprechen Juristen inzwischen von Betrug, arglistiger Täuschung und vorsätzlicher sittenwidriger Schädigung. Eine Produkthaftungsklage auf internationaler Ebene ist in Vorbereitung; eine erste Strafanzeige ist bei der Staatsanwaltschaft Berlin eingegangen. Kritische Stimmen finden sich zunehmend auch in den Medien und bei den Fachverbänden. Selbst die WHO ruderte kürzlich zurück.

„Das ist Kaffesatzleserei“, so sprach die Virologin Prof. Ulrike Kämmerer (Universität Würzburg) ihr vernichtendes Urteil über die Aussagekraft des PCR-Tests in Bezug auf eine Infektion. Sie war vom „Corona-Ausschuss“ eingeladen worden, der von einer Gruppe von Rechtsanwälten gegründet wurde. Seit Monaten werden Mediziner und Wissenschaftler aus dem In- und Ausland interviewt. Faktenbasiert soll hier die Corona-Krise aufgearbeitet werden.

Kämmerers Darlegung ist für medizinisches Fachpersonal allerdings eine Binsenweisheit: PCR-Tests sind für die klinische Diagnostik nicht geeignet. Der PCR-Test ermittelt aus dem Rachenabstrich RNA-Schnipsel von einem Virus-Molekül. Er kann keine Aussage treffen, ob ein Mensch erkrankt ist oder andere anstecken kann. Er sagt nichts darüber aus, ob das Virus vermehrungsfähig oder ein unwirksames Überbleibsel von einer überstandenen Infektion ist.

Pikanterweise wird dies sogar bestätigt vom Entwickler des für Covid-19-relevanten PCR-Tests, Prof. Christian Drosten von der Berliner Charité: 2014 betonte er in der „Wirtschaftswoche“ zu einem Ausbruch des MERS-Virus (auch ein Corona-Virus): Die PCR-Tests seien so hochempfindlich, dass auch kerngesunde und nicht ansteckende Menschen positiv getestet würden. Er kritisierte damals sogar, dass die Medien „die Sache unglaublich hochgekocht“ hätten.

Das mag angesichts seiner Aussagen im Jahr 2020 verblüffen – damals bezog er sich auf einen MERS-Ausbruch in Saudi-Arabien. Das Prinzip des Tests aber gilt selbstredend bis heute.

Selbst bei der WHO scheint es einen Schwenk zu geben. Am 12. Oktober

forderte Dr. David Nabarro die Regierungen dieser Welt öffentlich auf, von Lockdowns abzusehen. Unternehmen rutschen immer schneller sinnlos in die Insolvenz, arme Menschen würden immer ärmer, so der WHO-Sprecher.

Ende Oktober - kurz vor dem erneuten Lockdown - veröffentlichte eine große Gruppe von Ärzten, Wissenschaftlern und Facharzt-Verbänden unter dem Dach der Kassenärztlichen Bundesvereinigung (KBV) ein Positionspapier, in dem ausdrücklich vor einem - wiederum von den positiven Fallzahlen abgeleiteten - Lockdown abgeraten wurde. Man könne das Land nicht über Wochen und Monate in ein künstliches Koma versetzen mit der Folge „bleibender Schäden für Gesellschaft, Kultur und Wirtschaft“, sagte KBV-Vorstandsvorsitzender Dr. Andreas Gassen.

Auch Prof. Jonas Schmidt-Chanasit (Hamburger Tropeninstitut) kritisierte entschieden die Schließung von Gaststätten, Hotels und Theater, in denen die „Hygieneregeln eingehalten werden und es keinen Infektionsfall“ gebe. Für den Chef-Epidemiologen der Berliner Charité, Prof. Stefan Willich, sollte ein Lockdown „eine Maßnahme nur im absoluten Notfall bleiben“, wie er der Berliner Zeitung mitteilte. Im Gesundheitssystem könne er gravierende Schäden anrichten. Auch sei es falsch, Sportmöglichkeiten einzuschränken. Die Worte der Experten blieben allerdings ungehört.

In den Statistiken - u.a. des RKI - ist ein weiterer Anstieg der Testzahlen festzustellen. Mitte Oktober wurden pro Woche 1,2 Millionen, in der dritten Oktoberwoche bereits 1,3 Millionen getestet. Ergebnis: 3,6 Prozent positiv bzw. 5,6 Prozent - wobei „positiv“ eben nicht gleichzusetzen ist mit „erkrankt“. Die Kette: positiv - krank - ansteckend - Krankenhaus - Intensivstation - Tod ist, wie u.a. im Corona-Ausschuss dargelegt, ein gravierender Fehlschluss.

Dr. Reiner Füllmich, Mitgründer des Ausschusses, wertet den Einsatz der PCR-Tests als einen riesigen Betrug von juristisch höchster Brisanz. Dieser „Idiotentest ist unter anderem verantwortlich für die verheerenden gesundheitlichen und wirtschaftlichen Schäden, deren Ausmaß noch gar nicht erkennbar ist“, betonte er im Gespräch.

Juristisch gesehen handele es sich strafrechtlich um „Betrug, vorsätzliche sittenwidrige Schädigung und angesichts der existenzvernichtenden Schäden weltweit um Verbrechen gegen die Menschlichkeit“. Zivilrechtlich gehe es um eine „arglistige Täuschung“ über ein fehlerhaftes Produkt. Daraus wiederum leitet er die Pflicht zu vollem Schadenersatz ab. Bestätigt fühlt sich Füllmich durch den Zivilrechtsprofessor Martin Schwab, der in einem 180seitigen Rechtsgutachten zu der gleichen Schlussfolgerung kommt.

Reiner Füllmich, der auch eine Kanzlei in Kalifornien hat, bereitet mit kanadischen und US-Kollegen gerade eine Produkthaftungsklage als Sammelklage vor. „In den USA haben solche Klagen viel mehr Gewicht als in Deutschland, davon können VW und Deutsche Bank ja ein Liedchen singen“, sagt er.

In vorderster Reihe stehen die WHO, RKI-Chef Wieler und Drosten, dessen Test

auf Empfehlung der WHO millionenfach auch in die USA verkauft wurde. Und damit ist die US-Justiz am Ball. „Wenn diese Welle zu uns überschwappt, können sich alle Geschädigten dieser Klage anschließen“. Er schätzt den Streitwert in Höhe von Hunderten von Milliarden Euro. Selbst kleine Unternehmen könnten auf dieser Basis Schadenersatz fordern.

Der Präsident der Hamburger Ärztekammer, Walter Plassmann, hatte bereits vor mehreren Wochen erklärt, dass die Tabellen mit den positiv Getesteten inzwischen „absurde Züge annehmen“. Er konstatierte: „Es ist kein Killervirus, das uns zwingt, im aseptischen Panikraum zu zittern, bis der Spuk vorbei ist.“ Eine Infektion, erklärte er bei Focus-online, sei noch lange keine Krankheit.



6

Ähnliches war auch von Professor René Gottschalk, Leiter des Gesundheitsamtes Frankfurt a.M. zu lesen. Er beklagte unter anderem im Hessischen Ärzteblatt vor einigen Wochen „mangelnde Fachexpertisen, eine massive Gefährdung gesellschaftlicher und wirtschaftlicher Strukturen.“

Bei Bild online schimpfte der Hygiene-Professor Klaus-Dieter Zastrow über die neuen, willkürlich gesetzten Grenzwerte von 35 oder 50 auf 100.000 Einwohner als Risikobewertung. „Das ist gewürfelt, das hat keine wissenschaftliche Basis“, kritisierte Zastrow. Ein Vergleich zum April sei irreführend, weil jetzt auch fünf Mal mehr getestet würde. Auch auf diese Aussagen gab es keine Reaktion in der Politik.

Die Ärztekammer Oberösterreich hat im ORF festgestellt, dass die Tests ganz fälschlicherweise das „Maß aller Dinge“ seien, die darauf basierenden Maßnahmen unabsehbare „verheerende Folgen“ hätten. Es handele sich inzwischen um einen „technischen Labor-Tsunami“. Die Todesrate dagegen liege im Bereich einer schweren Grippe-Epidemie.

Der Rechtswissenschaftler Prof. Dr. Thorsten Kingreen (Universität Regensburg) wurde vom Bundestag mit einem Gutachten beauftragt. Sein Fazit: Eine „epidemische Lage von nationaler Tragweite liegt nicht vor“. Die bis heute gültige Ermächtigung des Bundesgesundheitsministers sei „verfassungswidrig“.

Die Mehrheit im Bundestag scheint das nicht zu interessieren: Der offensichtlich verfassungswidrige Zustand ist bis März 2021 fortgeschrieben worden. Der Chef des Verfassungsgerichtshofs Rheinland-Pfalz, Lars Brocker, spricht ebenfalls von Verfassungswidrigkeit und warnte vor einem „Corona-Sonderrechtsregime“.

Der Hochschulprofessor Dr. Gilbert Brands hat bei der Staatsanwaltschaft in Berlin Strafanzeige eingereicht gegen RKI-Chef Wieler und den Regierungsberater Drostens wegen des Verdachts auf „betrügerische Handlungen bei der Beratung der Bundesregierung zur Corona-Problematik und dadurch verursachte schwere volkswirtschaftliche Schäden und massive Störung der gesellschaftlichen Stabilität“.

Öffentlich zu Wort gemeldet hat sich auch das „National Bureau of Economic Research“ mit einer weltweit angelegten Metastudie. Das unabhängige US-

Institut, dem zahlreiche Nobelpreisträger zuarbeiten, kommt zu dem Schluss, dass „alle nicht-pharmazeutischen Maßnahmen völlig wirkungslos gewesen sind.“ Gemeint waren damit Einschränkungen wie Lockdown, Kontaktverbote, Maskenzwang und anderes.

Der ehemalige Vize-Präsident und führende Wissenschaftler des Pharmariesen Pfizer, Dr. Mike Yeadon, sagte kürzlich in einem Interview, dass die zweite Welle auf gefälschten Daten künstlich konstruiert werde, nämlich auf „falsch positiven Ergebnissen von inhärent unzuverlässigen Tests“.

Fazit für Reiner Füllmich: „Aufgrund der inzwischen unübersehbaren Fülle an evidenzbasierten Fakten muss endlich diese auf Betrug basierende 'Plandemie' beendet werden.“

Weitere Informationen bei: www.corona-ausschuss.de

AM

Removal Lists of Tests that Should No Longer Be Used and/or Distributed for COVID-19: FAQs on Testing for SARS-CoV-2

This page provides answers to frequently asked questions related to tests that should no longer be used and/or distributed for COVID-19.

This section includes questions and answers regarding the policies outlined in the *Immediately in Effect Guidance for Clinical Laboratories, Commercial Manufacturers, and Food and Drug Administration Staff: Policy for Coronavirus Disease-2019 Tests during the Public Health Emergency (Revised)* ([/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/policy-coronavirus-disease-2019-tests-during-public-health-emergency-revised](#)). In this section, this guidance is referred to as the Policy for Coronavirus Disease-2019 Tests.

For a directory of FAQs related to SARS-CoV-2 testing, see [FAQs on Testing for SARS-CoV-2](#) ([/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/faqs-testing-sars-cov-2](#)).

Q: What laboratories that had previously provided notification to FDA that they had developed and validated a diagnostic SARS-CoV-2 test under the policy outlined in Section IV.A of the Policy for Coronavirus Disease-2019 Tests have now been removed from that notification list because FDA has determined the test should no longer be used? (Updated 9/25/20)

The laboratories in the list below provided notification to the FDA that they developed and validated a diagnostic SARS-CoV-2 test as set forth in Section IV.A of the *Policy for Coronavirus Disease-2019 Tests* ([/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/policy-coronavirus-disease-2019-tests-during-public-health-emergency-revised](#)). Although the FDA had previously included them on the website notification list of laboratories offering diagnostic tests under that policy, they have now been removed from that notification list and placed on the list below. As noted in the guidance, among other things, if significant problems are identified with such a test that cannot be or have not been addressed in a timely manner, the FDA intends to remove the laboratory from the notification list. FDA has determined that there are significant problems with the tests being offered by the laboratories listed below that cannot be or have not been addressed in a timely manner. As such, these laboratories have now been removed from the notification list and placed on the removal list below.

A12

RESEARCH

Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR

Victor M Corman¹, Olfert Landt², Marco Kaiser³, Richard Molenkamp⁴, Adam Meijer⁵, Daniel KW Chu⁶, Tobias Bleicker¹, Sebastian Brünink³, Julia Schneider³, Marie Luisa Schmidt³, Daphne GJC Mulders⁴, Bart L Haagmans⁵, Bas van der Veer⁴, Sharon van den Brink⁵, Lisa Wijsman⁵, Gabriel Goderski⁷, Jean-Louis Romette⁷, Joanna Ellis⁸, Maria Zambon⁹, Malik Peiris⁸, Herman Goossens⁹, Chantal Reusken⁵, Marion PG Koopmans⁴, Christian Drosten¹

1. Charité – Universitätsmedizin Berlin Institute of Virology, Berlin, Germany and German Centre for Infection Research (DZIF), Berlin, Germany
2. Tib-Molbiol, Berlin, Germany
3. GenExpress GmbH, Berlin, Germany
4. Department of Viroscience, Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands
5. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, the Netherlands
6. University of Hong Kong, Hong Kong, China
7. Université d Aix-Marseille, Marseille, France
8. Public Health England, London, United Kingdom
9. Department of Medical Microbiology, Vaccine and Infectious Diseases Institute, University of Antwerp, Antwerp, Belgium

Correspondence: Christian Drosten (christian.drosten@charite.de)

Citation style for this article:
Corman Victor M, Landt Olfert, Kaiser Marco, Molenkamp Richard, Meijer Adam, Chu Daniel KW, Bleicker Tobias, Brünink Sebastian, Schneider Julia, Schmidt Marie Luisa, Mulders Daphne GJC, Haagmans Bart L, van der Veer Bas, van den Brink Sharon, Wijsman Lisa, Goderski Gabriel, Romette Jean-Louis, Ellis Joanna, Zambon Maria, Peiris Malik, Goossens Herman, Reusken Chantal, Koopmans Marion PG, Drosten Christian. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

Article submitted on 21 Jan 2020 / accepted on 22 Jan 2020 / published on 23 Jan 2020

Background: The ongoing outbreak of the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) poses a challenge for public health laboratories as virus isolates are unavailable while there is growing evidence that the outbreak is more widespread than initially thought, and international spread through travellers does already occur. **Aim:** We aimed to develop and deploy robust diagnostic methodology for use in public health laboratory settings without having virus material available. **Methods:** Here we present a validated diagnostic workflow for 2019-nCoV, its design relying on close genetic relatedness of 2019-nCoV with SARS coronavirus, making use of synthetic nucleic acid technology. **Results:** The workflow reliably detects 2019-nCoV, and further discriminates 2019-nCoV from SARS-CoV. Through coordination between academic and public laboratories, we confirmed assay exclusivity based on 297 original clinical specimens containing a full spectrum of human respiratory viruses. Control material is made available through European Virus Archive – Global (EVA-G), a European Union infrastructure project. **Conclusion:** The present study demonstrates the enormous response capacity achieved through coordination of academic and public laboratories in national and European research networks.

Introduction

According to the World Health Organization (WHO), the WHO China Country Office was informed of cases of pneumonia of unknown aetiology in Wuhan City, Hubei Province, on 31 December 2019 [1]. A novel coronavirus currently termed 2019-nCoV was officially announced

as the causative agent by Chinese authorities on 7 January. A viral genome sequence was released for immediate public health support via the community online resource virological.org on 10 January (Wuhan-Hu-1, GenBank accession number MN908947 [2]), followed by four other genomes deposited on 12 January in the viral sequence database curated by the Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID). The genome sequences suggest presence of a virus closely related to the members of a viral species termed severe acute respiratory syndrome (SARS)-related CoV, a species defined by the agent of the 2002/03 outbreak of SARS in humans [3,4]. The species also comprises a large number of viruses mostly detected in rhinolophid bats in Asia and Europe.

As at 20 January 2020*, 282 laboratory-confirmed human cases have been notified to WHO [5]. Confirmed cases in travellers from Wuhan were announced on 13 and 17 January in Thailand as well as on 15 January in Japan and 19 January in Korea. The extent of human-to-human transmission of 2019-nCoV is unclear at the time of writing of this report but there is evidence of some human-to-human transmission.

Among the foremost priorities to facilitate public health interventions is reliable laboratory diagnosis. In acute respiratory infection, RT-PCR is routinely used to detect causative viruses from respiratory secretions. We have previously demonstrated the feasibility of introducing robust detection technology based on real-time RT-PCR in public health laboratories during international

TABLE 1

Primers and probes, real-time RT-PCR for 2019 novel coronavirus

Assay/use	Oligonucleotide	Sequence ^a	Concentration ^b
RdRP gene	RdRp_SARSt-F	GTGARATGGTCATGTGTGGCGG	Use 600 nM per reaction
	RdRp_SARSt-Pz	FAM-CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC-BBQ	Specific for 2019-nCoV, will not detect SARS-CoV. Use 100 nM per reaction and mix with Pz
	RdRp_SARSt-P1	FAM-CCAGGTGGWACRTCATCMGGTGATGC-BBQ	Pan Sarbeco-Probe will detect 2019-nCoV, SARS-CoV and bat-SARS-related CoVs. Use 100 nM per reaction and mix with Pz
	RdRp_SARSt-R	CARATGTTAAASACACTATTAGCATA	Use 800 nM per reaction
E gene	E_Sarbeco_F	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT	Use 400 nm per reaction
	E_Sarbeco_P1	FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG-BBQ	Use 200 nm per reaction
	E_Sarbeco_R	ATATTGCAGCAGTACGCACACA	Use 400 nm per reaction
N gene	N_Sarbeco_F	CACATTGGCACCCGCAATC	Use 600 nm per reaction
	N_Sarbeco_P	FAM-ACTTCTCAAGGAACAACATTGCCA-BBQ	Use 200 nm per reaction
	N_Sarbeco_R	GAGGAACGAGAAGAGGCTTG	Use 800 nm per reaction

^a W is A/T; R is G/A; M is A/C; S is G/C. FAM: 6-carboxyfluorescein; BBQ: blackberry quencher.

^b Optimised concentrations are given in nanomol per litre (nM) based on the final reaction mix, e.g. 1.5 µL of a 20 µM primer stock solution per 25 µL total reaction volume yields a final concentration of 600 nM as indicated in the table.

health emergencies by coordination between public and academic laboratories [6-12]. In all of these situations, virus isolates were available as the primary substrate for establishing and controlling assays and assay performance.

In the present case of 2019-nCoV, virus isolates or samples from infected patients have so far not become available to the international public health community. We report here on the establishment and validation of a diagnostic workflow for 2019-nCoV screening and specific confirmation, designed in absence of available virus isolates or original patient specimens. Design and validation were enabled by the close genetic relatedness to the 2003 SARS-CoV, and aided by the use of synthetic nucleic acid technology.

Methods

Clinical samples and coronavirus cell culture supernatants for initial assay evaluation

Cell culture supernatants containing typed coronaviruses and other respiratory viruses were provided by Charité and University of Hong Kong research laboratories. Respiratory samples were obtained during 2019 from patients hospitalised at Charité medical centre and tested by the NxTAG respiratory pathogen panel (Luminex, S⁺Hertogenbosch, The Netherlands) or in cases of MERS-CoV by the MERS-CoV uPE assay as published before [10]. Additional samples were selected from biobanks at the Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Bilthoven, at Erasmus University Medical Center, Rotterdam, at Public Health England (PHE), London, and at the University of Hong Kong. Samples from all collections

comprised sputum as well as nose and throat swabs with or without viral transport medium.

Faecal samples containing bat-derived SARS-related CoV samples (identified by GenBank accession numbers) were tested: KC633203, Betacoronavirus BtCoV/Rhi_eur/BB98-98/BGR/2008; KC633204, Betacoronavirus BtCoV/Rhi_eur/BB98-92/BGR/2008; KC633201, Betacoronavirus BtCoV/Rhi_bla/BB98-22/BGR/2008; GU190221 Betacoronavirus Bat coronavirus BR98-19/BGR/2008; GU190222 Betacoronavirus Bat coronavirus BM98-01/BGR/2008; GU190223, Betacoronavirus Bat coronavirus BM98-13/BGR/2008. All synthetic RNA used in this study was photometrically quantified.

RNA extraction

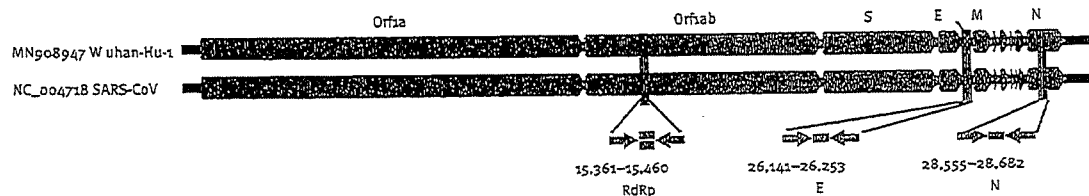
RNA was extracted from clinical samples with the MagNA Pure 96 system (Roche, Penzberg, Germany) and from cell culture supernatants with the viral RNA mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany).

Real-time reverse-transcription PCR

A 25 µL reaction contained 5 µL of RNA, 12.5 µL of 2 × reaction buffer provided with the Superscript III one step RT-PCR system with Platinum Taq Polymerase (Invitrogen, Darmstadt, Germany; containing 0.4 mM of each deoxyribont triphosphates (dNTP) and 3.2 mM magnesium sulphate), 1 µL of reverse transcriptase/Taq mixture from the kit, 0.4 µL of a 50 mM magnesium sulphate solution (Invitrogen), and 1 µg of nonacetylated bovine serum albumin (Roche). Primer and probe sequences, as well as optimised concentrations are shown in Table 1. All oligonucleotides were synthesised and provided by Tib-Molbiol (Berlin).

FIGURE 1

Relative positions of amplicon targets on the SARS coronavirus and the 2019 novel coronavirus genome



E: envelope protein gene; M: membrane protein gene; N: nucleocapsid protein gene; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase gene; S: spike protein gene.

Numbers below amplicons are genome positions according to SARS-CoV, GenBank NC_004718.

Germany). Thermal cycling was performed at 55 °C for 10 min for reverse transcription, followed by 95 °C for 3 min and then 45 cycles of 95 °C for 15 s, 58 °C for 30 s. Participating laboratories used either Roche Light Cycler 480II or Applied Biosystems ViiA7 instruments (Applied Biosystems, Hong Kong, China).

Protocol options and application notes

Laboratories participating in the evaluation used the TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix (Thermo Fisher) with the same oligonucleotide concentrations and cycling conditions. The QIAGEN One-Step RT-PCR Kit was also tested and found to be compatible.

The intended cross-reactivity of all assays with viral RNA of SARS-CoV allows us to use the assays without having to rely on external sources of specific 2019-nCoV RNA.

For a routine workflow, we recommend the E gene assay as the first-line screening tool, followed by confirmatory testing with the RdRp gene assay. Application of the RdRp gene assay with dual colour technology can discriminate 2019-nCoV (both probes positive) from SARS-CoV RNA if the latter is used as positive control. Alternatively, laboratories may choose to run the RdRp assay with only the 2019-nCoV-specific probe.

Ethical statement

The internal use of samples for diagnostic workflow optimisation was agreed under the medical ethical rules of each of the participating partners.

Results

Before public release of virus sequences from cases of 2019-nCoV, we relied on social media reports announcing detection of a SARS-like virus. We thus assumed that a SARS-related CoV is involved in the outbreak. We downloaded all complete and partial (>400 nt) SARS-related virus sequences available in GenBank by 1 January 2020. The list (n=729 entries) was manually checked and artificial sequences (laboratory-derived,

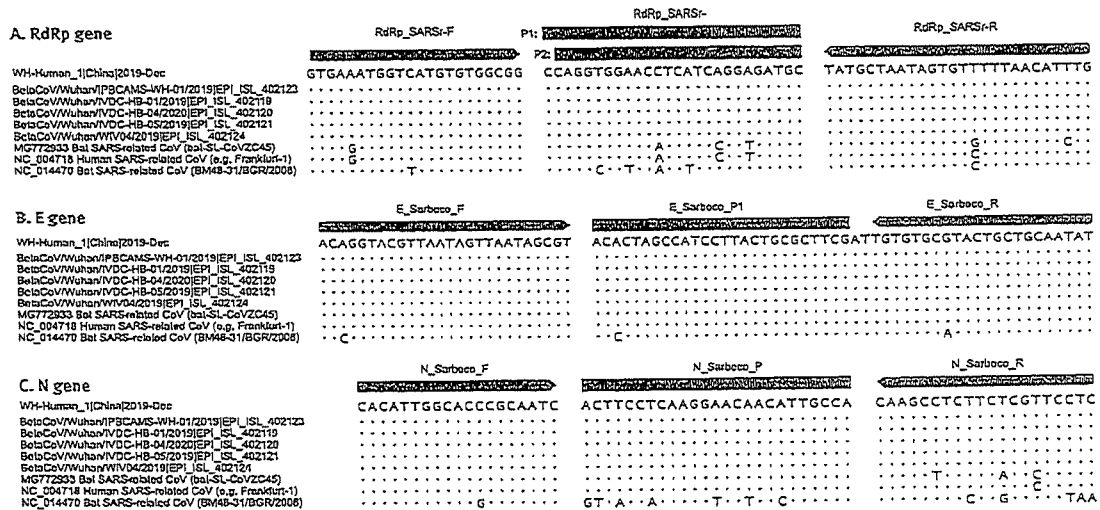
synthetic, etc), as well as sequence duplicates were removed, resulting in a final list of 375 sequences. These sequences were aligned and the alignment was used for assay design (Supplementary Figure S1). Upon release of the first 2019-nCoV sequence at virological.org, three assays were selected based on how well they matched to the 2019-nCoV genome (Figure 1). The alignment was complemented by additional sequences released independently on GISAID (<https://www.gisaid.org>), confirming the good matching of selected primers to all sequences. Alignments of primer binding domains with 2019-nCoV, SARS-CoV as well as selected bat-associated SARS-related CoV are shown in Figure 2.

Assay sensitivity based on SARS coronavirus virions

To obtain a preliminary assessment of analytical sensitivity, we used purified cell culture supernatant containing SARS-CoV strain Frankfurt-1 virions grown on Vero cells. The supernatant was ultrafiltered and thereby concentrated from a ca 20-fold volume of cell culture supernatant. The concentration step simultaneously reduces the relative concentration of background nucleic acids such as not virion-packaged viral RNA. The virion preparation was quantified by real-time RT-PCR using a specific in vitro-transcribed RNA quantification standard as described in Drosten et al. [8]. All assays were subjected to replicate testing in order to determine stochastic detection frequencies at each assay's sensitivity end point (Figure 3A and B). All assays were highly sensitive, with best results obtained for the E gene and RdRp gene assays (5.2 and 3.8 copies per reaction at 95% detection probability, respectively). These two assays were chosen for further evaluation. One of the laboratories participating in the external evaluation used other basic RT-PCR reagents (TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix) and repeated the sensitivity study, with equivalent results (E gene: 3.2 RNA copies/reaction (95% CI: 2.2–6.8); RdRp: 3.7 RNA copies/reaction (95% CI: 2.8–8.0). Of note, the N gene assay also performed well but was not subjected

FIGURE 2

Partial alignments of oligonucleotide binding regions, SARS-related coronaviruses (n = 9)



The panels show six available sequences of 2019-nCoV, aligned to the corresponding partial sequences of SARS-CoV strain Frankfurt 1, which can be used as a positive control for all three RT-PCR assays. The alignment also contains a closely related bat virus (Bat SARS-related CoV isolate bat-SL-CoVZC45, GenBank accession number MG772933) as well as the most distant member within the SARS-related bat CoV clade, detected in Bulgaria (GenBank accession number NC_014470). Dots represent identical nucleotides compared with the WH_Human_1 sequence. Nucleotide substitutions are specified. Blue arrows: oligonucleotides as specified in Table 1. More comprehensive alignments can be found in the Supplement.

to intensive further validation because it was slightly less sensitive (Supplementary Figure S2)

Sensitivity based on in vitro-transcribed RNA identical to 2019 novel coronavirus target sequences

Although both assays detected 2019-nCoV without polymorphisms at oligonucleotide binding sites (Figure 2), we additionally generated in vitro-transcribed RNA standards that exactly matched the sequence of 2019-nCoV for absolute quantification and studying the limit of detection (LOD). Replicate reactions were done at concentrations around the detection end point determined in preliminary dilution experiments. The resulting LOD from replicate tests was 3.9 copies per reaction for the E gene assay and 3.6 copies per reaction for the RdRp assay (Figure 3C and D). These figures were close to the 95% hit rate of 2.9 copies per reaction, according to the Poisson distribution, expected when one RNA molecule is detected.

Discrimination of 2019 novel coronavirus from SARS coronavirus by RdRp assay

Following the rationale that SARS-CoV RNA can be used as a positive control for the entire laboratory procedure, thus obviating the need to handle 2019-nCoV RNA, we formulated the RdRp assay so that it contains two probes: a broad-range probe reacting with SARS-CoV and 2019-nCoV and an additional probe that reacts

only with 2019-nCoV. By limiting dilution experiments, we confirmed that both probes, whether used individually or in combination, provided the same LOD for each target virus. The specific probe RdRp_SARSr-P2 detected only the 2019-nCoV RNA transcript but not the SARS-CoV RNA.

Detection range for SARS-related coronaviruses from bats

At present, the potential exposure to a common environmental source in early reported cases implicates the possibility of independent zoonotic infections with increased sequence variability [5]. To show that the assays can detect other bat-associated SARS-related viruses, we used the E gene assay to test six bat-derived faecal samples available from Drexler et al. [13] and Muth et al. [14]. These virus-positive samples stemmed from European rhinolophid bats. Detection of these phylogenetic outliers within the SARS-related CoV clade suggests that all Asian viruses are likely to be detected. This would, theoretically, ensure broad sensitivity even in case of multiple independent acquisitions of variant viruses from an animal reservoir.

Specificity testing

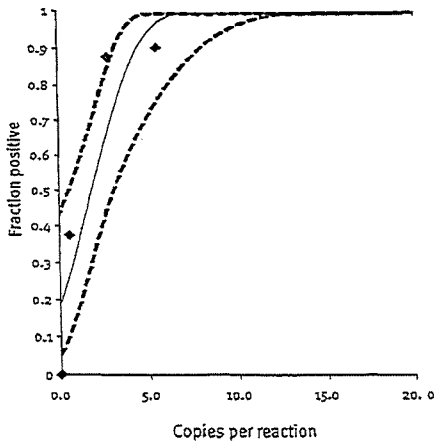
Chemical stability

To exclude non-specific reactivity of oligonucleotides among each other, causing artificial fluorescent

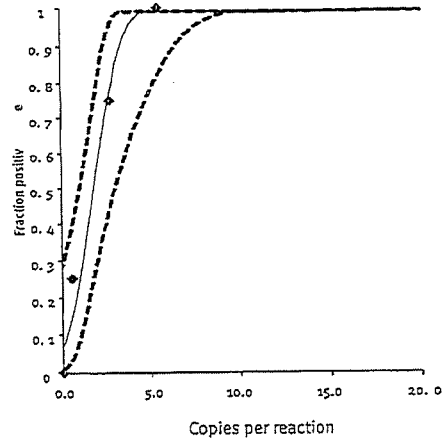
FIGURE 3

Determination of limits of detection based on SARS coronavirus genomic RNA and 2019 novel coronavirus-specific in vitro transcribed RNA

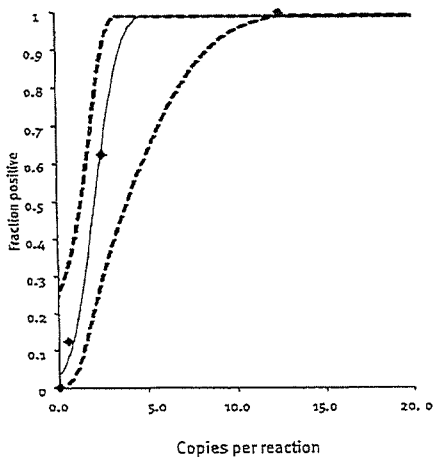
A. E gene assay vs SARS-CoV: 5.2 c/r (95% CI: 3.7–9.6)



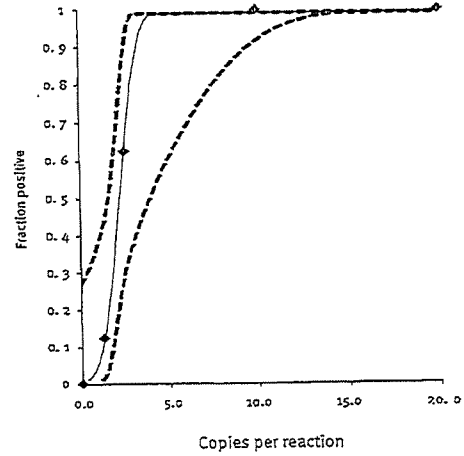
B. RdRp gene assay vs SARS-CoV: 3.8 c/r (95% CI: 2.7–7.6)



C. E gene assay vs 2019-nCoV IVT RNA: 3.9 c/r (95% CI: 2.8–9.8)



D. RdRp assay vs 2019-nCoV IVT RNA: 3.6 c/r (95% CI: 2.7–11.2)



CI: confidence intervals; c/r: copies per reaction; IVT: in vitro-transcribed RNA.

A: E gene assay, evaluated with SARS-CoV genomic RNA. B: RdRp gene assay evaluated with SARS-CoV genomic RNA. C: E-gene assay, evaluated with 2019-nCoV-specific in vitro-transcribed RNA standard. D: RdRp gene assay evaluated with 2019-nCoV-specific in vitro-transcribed RNA standard.

The x-axis shows input RNA copies per reaction. The y-axis shows positive results in all parallel reactions performed, squares are experimental data points resulting from replicate testing of given concentrations (x-axis) in parallel assays (eight replicate reactions per point).

Technical limits of detection are given in the panels headings. The inner line is a probit curve (dose-response rule). The outer dotted lines are 95% CI.

TABLE 2

Tests of known respiratory viruses and bacteria in clinical samples and cell culture preparations for cross-reactivity in 2019 novel coronavirus E and RdRp gene assays (n = 310)

Clinical samples with known Viruses	Clinical samples ^a	Virus isolates ^b
HCoV-HKU1	14	1 ^c
HCoV-OC43	16	2 ^d
HCoV-NL63	14	1 ^e
HCoV-229E	18	2 ^f
MERS-CoV	5	1 ^g
Influenza A(H1N1)pdm09	17	1
Influenza A(H3N2)	16	1
Influenza A (untyped)	11	NA
Influenza A(H5N1)	1	1
Influenza A(H7N9)	0	1
Influenza B (Victoria or Yamagata)	31	1
Rhinovirus/enterovirus	31	NA
Respiratory syncytial virus (A/B)	33	NA
Parainfluenza 1 virus	12	NA
Parainfluenza 2 virus	11	NA
Parainfluenza 3 virus	14	NA
Parainfluenza 4 virus	11	NA
Human metapneumovirus	16	NA
Adenovirus	13	1
Human bocavirus	6	NA
<i>Legionella</i> spp.	3	NA
<i>Mycoplasma</i> spp.	4	NA
Total clinical samples	297	NA

^a For samples with multiple viruses detected, the virus with highest concentration is listed, as indicated by real-time PCR Ct value.

^b Directly quantified or spiked in human negative-testing sputum.

^c 1×10^5 RNA copies/mL, determined by specific real-time RT-PCR. Isolated from human airway epithelial culture.

^d 1×10^{10} RNA copies/mL, determined by specific real-time RT-PCR of one isolate. The other isolate was not quantified but spiked in human negative-testing sputum.

^e 4×10^7 RNA copies/mL, determined by specific real-time RT-PCR.

^f 3×10^7 RNA copies/mL, determined by specific real-time RT-PCR of one isolate. The other isolate was not quantified spiked in human negative-testing sputum.

^g 1×10^6 RNA copies/mL, determined by specific real-time RT-PCR.

signals, all assays were tested 120 times in parallel with water and no other nucleic acid except the provided oligonucleotides. In none of these reactions was any positive signal detected.

Cross-reactivity with other coronaviruses

Cell culture supernatants containing all endemic human coronaviruses (HCoV)229E, NL63, OC43 and HKU1 as well as MERS-CoV were tested in duplicate in all three assays (Table 2). For the non-cultivable HCoV-HKU1, supernatant from human airway culture was used. Viral RNA concentration in all samples was determined by specific real-time RT-PCRs and in vitro-transcribed RNA

standards designed for absolute quantification of viral load. Additional undiluted (but not quantified) cell culture supernatants were tested as summarised in Table 2. These were additionally mixed into negative human sputum samples. None of the tested viruses or virus preparations showed reactivity with any assay.

Exclusivity of 2019 novel coronavirus based on clinical samples pre-tested positive for other respiratory viruses
Using the E and RdRp gene assays, we tested a total of 297 clinical samples from patients with respiratory disease from the biobanks of five laboratories that provide diagnostic services (one in Germany, two in the Netherlands, one in Hong Kong, one in the UK). We selected 198 samples from three university medical centres where patients from general and intensive care wards as well as mainly paediatric outpatient departments are seen (Germany, the Netherlands, Hong Kong). The remaining samples were contributed by national public health services performing surveillance studies (RIVM, PHE), with samples mainly submitted by practitioners. The samples contained the broadest range of respiratory agents possible and reflected the general spectrum of virus concentrations encountered in diagnostic laboratories in these countries (Table 2). In total, this testing yielded no false positive outcomes. In four individual test reactions, weak initial reactivity was seen but they were negative upon retesting with the same assay. These signals were not associated with any particular virus, and for each virus with which initial positive reactivity occurred, there were other samples that contained the same virus at a higher concentration but did not test positive. Given the results from the extensive technical qualification described above, it was concluded that this initial reactivity was not due to chemical instability of real-time PCR probes but most probably to handling issues caused by the rapid introduction of new diagnostic tests and controls during this evaluation study.

Discussion

The present report describes the establishment of a diagnostic workflow for detection of an emerging virus in the absence of physical sources of viral genomic nucleic acid. Effective assay design was enabled by the willingness of scientists from China to share genome information before formal publication, as well as the availability of broad sequence knowledge from ca 15 years of investigation of SARS-related viruses in animal reservoirs. The relative ease with which assays could be designed for this virus, in contrast to SARS-CoV in 2003, proves the huge collective value of descriptive studies of disease ecology and viral genome diversity [8,15-17].

Real-time RT-PCR is widely deployed in diagnostic virology. In the case of a public health emergency, proficient diagnostic laboratories can rely on this robust technology to establish new diagnostic tests within their routine services before pre-formulated assays become available. In addition to information on

reagents, oligonucleotides and positive controls, laboratories working under quality control programmes need to rely on documentation of technical qualification of the assay formulation as well as data from external clinical evaluation tests. The provision of control RNA templates has been effectively implemented by the EVAg project that provides virus-related reagents from academic research collections [18]. SARS-CoV RNA was retrievable from EVAg before the present outbreak; specific products such as RNA transcripts for the here-described assays were first retrievable from the EVAg online catalogue on 14 January 2020 (<https://www.european-virus-archive.com>). Technical qualification data based on cell culture materials and synthetic constructs, as well as results from exclusivity testing on 75 clinical samples, were included in the first version of the diagnostic protocol provided to the WHO on 13 January 2020. Based on efficient collaboration in an informal network of laboratories, these data were augmented within 1 week comprise testing results based on a wide range of respiratory pathogens in clinical samples from natural infections. Comparable evaluation studies during regulatory qualification of in vitro diagnostic assays can take months for organisation, legal implementation and logistics and typically come after the peak of an outbreak has waned. The speed and effectiveness of the present deployment and evaluation effort were enabled by national and European research networks established in response to international health crises in recent years, demonstrating the enormous response capacity that can be released through coordinated action of academic and public laboratories [18-22]. This laboratory capacity not only supports immediate public health interventions but enables sites to enrol patients during rapid clinical research responses.

*Author's correction

The sentence As at 20 January 2020, 282 laboratory-confirmed human cases have been notified to WHO was originally published with a wrong date (As at 20 January 2019...). This mistake was corrected on 8 April 2020.

On 29 July 2020 the correct affiliation of Marco Kaiser was added and the remaining affiliations were renumbered.

**Addendum

The Conflict of interest section was updated on 29 July 2020.

Acknowledgements

This work was funded by European Union DG Research through projects Prepare (GA602525), Compare (GA643476), and EVAg (GA653316); by European Union DG SANCO through EVD-LabNet, as well as by the German Ministry of Research through projects RAPID (01K1723A) and DZIF (301-4-7-01.703).

We gratefully acknowledge the authors, the originating and submitting laboratories for their sequence and metadata shared through GISAID, on which this research is based.

All authors of data may be contacted directly via www.gisaid.org: National Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC (Wenjie Tan, Xiang Zhao, Wenling Wang, Xuejun Ma, Yongzhong Jiang, Roujian Lu, Ji Wang, Weimin Zhou, Peihua Niu, Peipei Liu, Faxian Zhan, Weifeng Shi, Baoying Huang, Jun Liu, Li Zhao, Yao Meng, Xiaozhou He, Fei Ye, Na Zhu, Yang Li, Jing Chen, Wenbo Xu, George F. Gao, Guizhen Wu); Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences (Peng Zhou, Xing-Lou Yang, Ding-Yu Zhang, Lei Zhang, Yan Zhu, Hao-Rui Si, Zhengli Shi); Institute of Pathogen Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College (Lili Ren, Jianwei Wang, Qi Jin, Zichun Xiang, Yongjun Li, Zhiqiang Wu, Chao Wu, Yiwei Liu); and National Institute for Communicable Disease Control and Prevention (ICDC), China CDC (Zhang Y-Z, Wu, F, Chen Y-M, Pei Y-Y, Xu L, Wang W, Zhao S, Yu B, Hu Y, Tao Z-W, Song Z-G, Tian J-H, Zhang Y-L, Liu Y, Zheng J-J, Dai F-H, Wang Q-M, She J-L and Zhu T-Y)

We thank Marta Zuchowski, Sigr d Kersten, and Joerg Hofmann for help with sample logistics. In vitro-transcribed control RNA for the E gene assay can be acquired from author C. D. through the European Virus Archive platform (www.european-virus-archive.com).

Conflict of interest **

Olfert Landt is CEO of Tib-Molbiol; Marco Kaiser is senior researcher at GenExpress and serves as scientific advisor for Tib-Molbiol.

Authors' contributions

VMC: Planned and conducted experiments, conceptualised the laboratory work

OL: Planned and conducted experiments, conceptualised the laboratory work

MK: Planned and conducted experiments

RM: Planned and conducted experiments, conceptualised the laboratory work

AM: Planned and conducted experiments, conceptualised the laboratory work

DKWC: Planned and conducted experiments

TB: Planned and conducted experiments

SB: Planned and conducted experiments

JS: Planned and conducted experiments

MLS: Planned and conducted experiments

DGJCM: Planned and conducted experiments

BLH: Planned and conducted experiments

BvdV: Planned and conducted experiments

SvdB: Planned and conducted experiments

LW: Planned and conducted experiments

GG: Planned and conducted experiments

JLR: Contributed to overall study conceptualization

JE: Planned and conducted experiments, conceptualised the laboratory work

MZ: Planned laboratory work, contributed to overall study conceptualization

MP: Planned laboratory work, contributed to overall study conceptualization

HG: Contributed to overall study conceptualization

CR: Planned experiments, conceptualised the laboratory work

MPGK: Planned experiments, conceptualised the laboratory work

CD: Planned experiments, conceptualised the laboratory work, conceptualised the overall study, wrote the manuscript draft.

References

1. World Health Organization (WHO). Coronavirus. Geneva: WHO; 2020 [Accessed 21 Jan 2020]. Available from: <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>
2. Zhang Y-Z. Novel 2019 coronavirus genome. *Virological*. [Accessed 21 Jan 2020]. Available from: <http://virological.org/t/novel-2019-coronavirus-genome/319>
3. de Groot RJ, Baker SC, Baric R, Enjuanes L, Gorbalenya AE, Holmes KY, et al. Family Coronaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London; Waltham: Academic Press; 2012. p. 806-20.
4. Peiris JS, Yuen KY, Osterhaus AD, Stöhr K. The severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*. 2003;349(25):2431-41. <https://doi.org/10.1056/NEJMra032498> PMID: 14681510
5. World Health Organization. (WHO). Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation report – 1. Geneva: WHO; 21 Jan 2020. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf>
6. Abbott A. SARS testing: First past the post. *Nature*. 2003;423(6936):114. <https://doi.org/10.1038/423114a> PMID: 12736651
7. Corman VM, Müller MA, Costabel U, Timm J, Binger T, Meyer B, et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. *Euro Surveill*. 2012;17(49):20334. <https://doi.org/10.2807/ese.17.49.20334-en> PMID: 23231891
8. Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt HR, Becker S, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(20):1967-76. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030747> PMID: 12690091
9. Corman VM, Eickmann M, Landt O, Bleicker T, Brünink S, Eschbach-Bludau M, et al. Specific detection by real-time reverse-transcription PCR assays of a novel avian influenza A(H7N9) strain associated with human spillover infections in China. *Euro Surveill*. 2013;18(16):20461. PMID: 23611031
10. Corman VM, Eckerle I, Bleicker T, Zaki A, Landt O, Eschbach-Bludau M, et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Euro Surveill*. 2012;17(39):20285. <https://doi.org/10.2807/ese.17.39.20285-en> PMID: 23041020
11. Panning M, Charrel RN, Donoso Mantke O, Landt O, Niedrig M, Drosten C. Coordinated implementation of chikungunya virus reverse transcription-PCR. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(3):469-71. <https://doi.org/10.3201/eid1503.081104> PMID: 19239767
12. Corman VM, Rasche A, Baronti C, Aldabbagh S, Cadar D, Reusken CB, et al. Assay optimization for molecular detection of Zika virus. *Bull World Health Organ*. 2016;94(12):880-92. <https://doi.org/10.2471/BLT.16.175950> PMID: 27994281
13. Drexler JF, Gloza-Rausch F, Glende J, Corman VM, Muth D, Goettsche M, et al. Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. *J Virol*. 2010;84(21):11336-49. <https://doi.org/10.1128/JVI.00650-10> PMID: 20686038
14. Muth D, Corman VM, Roth H, Binger T, Dijkman R, Gottula LT, et al. Attenuation of replication by a 29 nucleotide deletion in SARS-coronavirus acquired during the early stages of human-to-human transmission. *Sci Rep*. 2018;8(1):15177. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33487-8> PMID: 30310104
15. Corman VM, Muth D, Niemeyer D, Drosten C. Hosts and sources of endemic human coronaviruses. *Adv Virus Res*. 2018;100:163-88. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001> PMID: 29551135
16. Drexler JF, Corman VM, Drosten C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res*. 2014;101:45-56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013> PMID: 24184128
17. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(3):181-92. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9> PMID: 30531947
18. Romette JL, Prat CM, Gould EA, de Lamballerie X, Charrel R, Coutard B, et al. The European Virus Archive goes global: A growing resource for research. *Antiviral Res*. 2018;158:127-34. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.07.017> PMID: 30059721
19. Alleweldt F, Kara S, Osinski A, Van Baal P, Kellerborg K, Aarestrup FM, et al. Developing a framework to assess the cost-effectiveness of COMPARE - a global platform for the exchange of sequence-based pathogen data. *Rev Sci Tech*. 2017;36(2):311-22. <https://doi.org/10.20506/rst.36.1.2651> PMID: 28926006
20. Domingo C, Ellerbrok H, Koopmans M, Nitsche A, Leitmeyer K, Charrel RN, et al. Need for additional capacity and improved capability for molecular detection of yellow fever virus in European Expert Laboratories: External Quality Assessment, March 2018. *Euro Surveill*. 2018;23(28):1800341. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.28.1800341> PMID: 30017021
21. Pas SD, Patel P, Reusken C, Domingo C, Corman VM, Drosten C, et al. First international external quality assessment of molecular diagnostics for Mers-CoV. *J Clin Virol*. 2015;69:81-5. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.05.022> PMID: 26209385
22. Gobat N, Amuasi J, Yazdanpanah Y, Sigfid L, Davies H, Byrne JP, et al. Advancing preparedness for clinical research during infectious disease epidemics. *ERJ Open Res*. 2019;5(2):00227-2018. <https://doi.org/10.1183/23120541.00227-2018> PMID: 31123684

License, supplementary material and copyright

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) Licence. You may share and adapt the material, but must give appropriate credit to the source, provide a link to the licence and indicate if changes were made.

Any supplementary material referenced in the article can be found in the online version.

This article is copyright of the authors or their affiliated institutions, 2020.

A13

CORMAN-DROSTEN- ÜBERPRÜFUNGSBERICHT

KURIERT VON EINEM INTERNATIONALEN
KONSORTIUM VON WISSENSCHAFTLERN IN
LEBENSWISSENSCHAFTEN (ICSLs)

ZUHAUSE
HAUPTÜBERPRÜFUNGSBERICHT
RETRACTION REQUEST LETTER
EINREICHUNG KONSORTIUM
FALSCH-POSITIVE FOLGEN
DOWNLOADS KONFERENZEN
REICHWEITE SPIEGEL
KONTAKT & IMPRESSUM

Übersichtsbericht Corman-Drosten et al. Eurosurveillance 2020

27. November 2020

Diese umfassende Überprüfung Bericht über ihre Vorlage-Portal, eingeschlossen diese Bewertung Bericht zu Eurosurveillance Redaktion am 27. November 2020 offiziell vorgelegt wurde, ist ein Rückzug Anfrage Brief, von allen wichtigen & Co-Autoren unterzeichnet. Der erste und der letzte aufgeführte Name sind der erste und der zweite Hauptautor. Alle Namen dazwischen sind Mitautoren.

Die externe Begutachtung des RTPCR-Tests zum Nachweis von SARS-CoV-2 durch Fachkollegen zeigt 10 wichtige wissenschaftliche Mängel auf molekularer und methodischer Ebene: Konsequenzen für falsch positive Ergebnisse.

Pieter Borger⁽¹⁾, Bobby Rajesh Malhotra⁽²⁾, Michael Yeadon⁽³⁾, Clare
Craig⁽⁴⁾, Kevin McKernan⁽⁵⁾, Klaus Steger⁽⁶⁾, Paul McSheehy⁽⁷⁾,
Lidiya Angelova⁽⁸⁾, Fabio Franchi⁽⁹⁾, Thomas Binder⁽¹⁰⁾, Henrik
Ullrich⁽¹¹⁾, Makoto Ohashi⁽¹²⁾, Stefano Scoglio⁽¹³⁾, Marjolein
Doesburg-van Kleffens⁽¹⁴⁾, Dorothea Gilbert⁽¹⁵⁾, Rainer Klement⁽¹⁶⁾;
Ruth Schrufer⁽¹⁷⁾, Berber W. Pieksma⁽¹⁸⁾, Jan Bonte⁽¹⁹⁾, Bruno H. Dalle
Carbonare⁽²⁰⁾, Kevin P. Corbett⁽²¹⁾, Ulrike Kämmerer⁽²²⁾

ABSTRAKT

In der Veröffentlichung mit dem Titel „Nachweis des neuartigen Coronavirus 2019 (2019-nCoV) durch Echtzeit-RT-PCR“ (Eurosurveillance 25 (8) 2020) präsentieren die Autoren einen diagnostischen Workflow und ein RT-qPCR-Protokoll zum Nachweis und zur Diagnose von 2019-nCoV (jetzt als SARS-CoV-2 bekannt), von denen sie behaupten, dass sie validiert sind, sowie eine robuste Diagnosemethode für den Einsatz in Laborumgebungen im öffentlichen Gesundheitswesen.

In Anbetracht aller Konsequenzen, die sich aus dieser Veröffentlichung für Gesellschaften weltweit ergeben, führte eine Gruppe unabhängiger Forscher eine Punkt-für-Punkt-Überprüfung der oben genannten Veröffentlichung durch, in der 1) alle Komponenten des vorgestellten Testdesigns überprüft wurden, 2) die Die Empfehlungen des RT-qPCR-Protokolls wurden anhand der guten Laborpraxis bewertet und 3) die Parameter anhand der einschlägigen wissenschaftlichen Literatur auf diesem Gebiet untersucht.

Das veröffentlichte RT-qPCR-Protokoll zur Erkennung und Diagnose von 2019-nCoV und das Manuskript weisen zahlreiche technische und wissenschaftliche Fehler auf, darunter ein unzureichendes Primerdesign, ein problematisches und unzureichendes RT-qPCR-Protokoll und das Fehlen einer genauen Testvalidierung. Weder der vorgestellte Test noch das Manuskript selbst erfüllen die Anforderungen für eine akzeptable wissenschaftliche Veröffentlichung. Darüber hinaus werden schwerwiegende Interessenkonflikte der Autoren nicht erwähnt. Schließlich bedeutet der sehr kurze Zeitraum zwischen Einreichung und Annahme der Veröffentlichung (24 Stunden), dass ein systematischer Peer-Review-Prozess entweder hier nicht durchgeführt wurde oder von problematisch schlechter Qualität ist. Wir liefern überzeugende Beweise für verschiedene wissenschaftliche Unzulänglichkeiten, Fehler und Mängel.

Angesichts der hier vorgestellten wissenschaftlichen und methodischen Mängel sind wir zuversichtlich, dass die Redaktion von Eurosurveillance keine andere Wahl hat, als die Veröffentlichung zurückzuziehen.

KONZISER ÜBERPRÜFUNGSBERICHT

Dieses Papier wird zahlreiche schwerwiegende Mängel im Corman-Drosten-Papier aufzeigen, deren Bedeutung zu einer weltweiten Fehldiagnose von Infektionen geführt hat, die SARS-CoV-2 zugeschrieben werden und mit der Krankheit COVID-19 assoziiert

sind. Wir sind mit strengen Sperren konfrontiert, die das Leben und den Lebensunterhalt vieler Menschen zerstört haben, den eingeschränkten Zugang zu Bildung und diese von Regierungen auf der ganzen Welt auferlegten Einschränkungen, die einen direkten Angriff auf die Grundrechte der Menschen und ihre persönlichen Freiheiten darstellen und zu Kollateralschäden für ganze Volkswirtschaften führen globaler Maßstab.

Es gibt zehn schwerwiegende Probleme mit dem Corman-Drosten-Papier, die wir in den folgenden Abschnitten genauer skizzieren und erläutern werden.

Das erste und wichtigste Problem ist, dass das neuartige Coronavirus SARS-CoV-2 (in der Veröffentlichung mit dem Namen 2019-nCoV und im Februar 2020 mit dem Namen SARS-CoV-2 von einem internationalen Konsortium von Virosexperten) auf in silico (theoretischen) Sequenzen basiert, geliefert von einem Labor in China [1], da den Autoren zu diesem Zeitpunkt weder Kontrollmaterial für infektiöses ("lebendes") oder inaktiviertes SARS-CoV-2 noch isolierte genomische RNA des Virus zur Verfügung stand. Bisher wurde von der Autorschaft keine Validierung basierend auf isolierten SARS-CoV-2-Viren oder RNA in voller Länge durchgeführt. Nach Corman et al.:

"Wir wollten robuste Diagnosemethoden für den Einsatz in Laborumgebungen des öffentlichen Gesundheitswesens entwickeln und einsetzen, ohne dass Virenmaterial verfügbar ist." [1]

Der Schwerpunkt sollte hier auf den beiden genannten Zielen liegen: a) *Entwicklung* und b) *Einsatz eines Diagnostiktests zur Verwendung in Laborumgebungen des öffentlichen Gesundheitswesens*. Diese Ziele sind nicht erreichbar, ohne dass tatsächlich Virenmaterial zur Verfügung steht (z. B. zur Bestimmung der infektiösen Viruslast). In jedem Fall kann nur ein Protokoll mit maximaler Genauigkeit das obligatorische und primäre Ziel in jedem Szenario-Ergebnis dieser Größenordnung sein. Die Bestimmung der kritischen Viruslast ist eine obligatorische Information, und es liegt in der Verantwortung von Christian Drosten, diese Experimente durchzuführen und die entscheidenden Daten bereitzustellen.

Trotzdem wurden diese in silico-Sequenzen verwendet, um eine RT-PCR-Testmethode zur Identifizierung des vorgenannten Virus zu entwickeln. Dieses Modell basierte auf der Annahme, dass das neuartige Virus SARS-CoV aus dem Jahr 2003 sehr ähnlich ist, da beide Beta-Coronaviren sind.

Der PCR-Test wurde daher unter Verwendung der Genomsequenz von SARS-CoV als Kontrollmaterial für die Sarbeco-Komponente entworfen; Wir wissen dies aus unserer persönlichen E-Mail-Kommunikation mit [2] einem der Mitautoren des Corman-Drosten-Papiers. Diese Methode zur Modellierung von SARS-CoV-2 wurde im Corman-Drosten-Papier wie folgt beschrieben:

„ Die Einrichtung und Validierung eines diagnostischen Workflows für das 2019-nCoV- Screening und die spezifische Bestätigung, der in Abwesenheit verfügbarer Virusisolate oder Originalpatientenproben entwickelt wurde. Design und Validierung wurden durch die enge genetische Verwandtschaft mit dem SARS-CoV von 2003 ermöglicht und durch den Einsatz der synthetischen Nukleinsäuretechnologie unterstützt. “

Die Reverse Transcription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) ist eine wichtige biomolekulare Technologie zum schnellen Nachweis seltener RNA-Fragmente, die im Voraus bekannt sind. Im ersten Schritt werden in der Probe vorhandene RNA-Moleküle revers transkribiert, um cDNA zu ergeben. Die cDNA wird dann in der Polymerasekettenreaktion unter Verwendung eines spezifischen Primerpaars und eines thermostabilen DNA-Polymeraseenzym amplifiziert. Die Technologie ist hochempfindlich und ihre Nachweisgrenze liegt theoretisch bei 1 Molekül cDNA. Die Spezifität der PCR wird stark von biomolekularen Designfehlern beeinflusst.

Was ist wichtig beim Entwerfen eines RT-PCR-Tests und des in der Corman-Drosten-Veröffentlichung beschriebenen quantitativen RT-qPCR-Tests?

1. Die Primer und Sonden:

- a) Die Konzentration der Primer und Sonden muss im optimalen Bereich liegen (100-200 nM).
- b) muss spezifisch für das Zielgen sein, das Sie amplifizieren möchten.
- c) muss einen optimalen Prozentsatz des GC-Gehalts im Verhältnis zu den gesamten stickstoffhaltigen Basen aufweisen (mindestens 40%, höchstens 60%)

d) Für die Virendiagnostik müssen mindestens 3 Primerpaare 3 virale Gene nachweisen (vorzugsweise so weit wie möglich voneinander entfernt im viralen Genom).

2. Die Temperatur, bei der alle Reaktionen stattfinden:

- a) DNA-Schmelztemperatur ($> 92^\circ$)
- b) DNA-Amplifikationstemperatur (TaqPol-spezifisch)
- c) T_m ; die Annealingtemperatur (die Temperatur, bei der die Primer und Sonden die Zielbindung / -ablösung erreichen und 2°C pro Primerpaar nicht überschreiten dürfen). T_m hängt stark vom GC-Gehalt der Primer ab

3. die Anzahl der Amplifikationszyklen (weniger als 35; vorzugsweise 25-30 Zyklen);

Im Falle des Virusnachweises erkennen > 35 Zyklen nur Signale, die nicht mit dem infektiösen Virus korrelieren, wie durch Isolierung in Zellkultur bestimmt [Übersicht in 2]; Wenn jemand durch PCR als positiv getestet wird, wenn ein Schwellenwert von 35 Zyklen oder höher verwendet wird (wie dies in den meisten Labors in Europa und den USA der Fall ist), beträgt die Wahrscheinlichkeit, dass diese Person tatsächlich infiziert ist, weniger als 3% das Ergebnis ist falsch positiv ist 97% [überprüft in 3]

4. Molekularbiologische Validierungen; amplifizierte PCR-Produkte müssen entweder durch Laufenlassen der Produkte in einem Gel mit einem DNA-Lineal oder durch direkte DNA-Sequenzierung validiert werden

5. Positive und negative Kontrollen sollten spezifiziert werden, um den spezifischen Virusnachweis zu bestätigen / zu widerlegen

6. Es sollte ein Standard Operational Procedure (SOP) verfügbar sein

SOP spezifiziert die obigen Parameter eindeutig, so dass alle Laboratorien in der Lage sind, genau die gleichen Testbedingungen einzurichten. Eine validierte universelle SOP ist unerlässlich, da sie den Vergleich von Daten innerhalb und zwischen Ländern ermöglicht.

Kleinere Bedenken mit dem CORMAN-DROSTEN-PAPIER

1. In Tabelle 1 des Corman-Drosten-Papiers sind verschiedene Abkürzungen angegeben - "nM" ist angegeben, "nm" nicht. In Bezug auf die korrekte Nomenklatur bedeutet nm "Nanometer", daher sollte nm hier nM anzeigen.
2. Es ist allgemein anerkannt, genetische Sequenzen immer in 5'-3'-Richtung zu schreiben, einschließlich der Reverse-Primer. Es ist höchst ungewöhnlich, eine Ausrichtung mit dem umgekehrten komplementären Schreiben der Primersequenz durchzuführen, wie dies die Autoren in Abbildung 2 des Corman-Drosten-Papiers getan haben. Hier wird zusätzlich eine Wobbelbasis als „y“ markiert, ohne dass die Basen beschrieben werden, für die das Y steht.
3. Zwei irreführende Fallstricke im Corman-Drosten-Papier sind, dass ihre Tabelle 1 weder Tm-Werte (Glühentemperaturwerte) enthält noch GC-Werte (Anzahl von G und C in den Sequenzen als %-Wert von Gesamtbasen).

WICHTIGE ANGELEGENHEITEN MIT DEM CORMAN-DROSTEN-PAPIER

EIN HINTERGRUND

Die Autoren stellen den Hintergrund ihrer wissenschaftlichen Arbeit wie folgt vor: „Der anhaltende Ausbruch des kürzlich aufgetretenen neuartigen Coronavirus (2019-nCoV) stellt eine Herausforderung für Laboratorien im Bereich der öffentlichen Gesundheit dar, da Virusisolate nicht verfügbar sind, während es zunehmend Hinweise darauf gibt, dass der Ausbruch weiter verbreitet ist als Anfangs gedacht, und internationale Verbreitung durch Reisende findet bereits statt.“

Laut BBC News [4] und Google Statistics [5] gab es am 21. Januar 2020 - dem Tag, an dem das Manuskript eingereicht wurde - weltweit 6 Todesfälle. Warum nahmen die Autoren eine Herausforderung für die Laboratorien für öffentliche Gesundheit an, obwohl es zu diesem Zeitpunkt keine wesentlichen Beweise dafür gab, dass der Ausbruch weiter verbreitet war als ursprünglich angenommen?

Als Ziel erklärten die Autoren, robuste Diagnosemethoden für den Einsatz in Laborumgebungen des öffentlichen Gesundheitswesens zu entwickeln und einzusetzen, ohne dass Virenmaterial zur Verfügung steht. Darüber hinaus erkennen sie an, dass "die vorliegende Studie die enorme Reaktionsfähigkeit zeigt, die durch die Koordination von akademischen und öffentlichen Laboratorien in nationalen und europäischen Forschungsnetzwerken erreicht wird."

B) Methoden und Ergebnisse

1. Primer & Probe Design

1a) Fehlerhafte Primerkonzentrationen

Zuverlässige und genaue PCR-Testprotokolle werden normalerweise mit 100 nM bis 200 nM pro Primer entwickelt [7]. In der Corman-Drosten-Arbeit beobachten wir ungewöhnlich hohe und unterschiedliche Primerkonzentrationen für mehrere Primer (Tabelle 1). Für die Primerpaare RdRp_SARsR-F und RdRp_SARsR-R werden 600 nM bzw. 800 nM beschrieben. In ähnlicher Weise empfehlen sie für den Primer-Satz N_Sarbeco_F und N_Sarbeco_R 600 nM bzw. 800 nM [1].

Es sollte klar sein, dass diese Konzentrationen viel zu hoch sind, um für spezifische Amplifikationen von Zielgenen optimal zu sein. Es gibt keinen spezifizierten Grund, diese extrem hohen Primerkonzentrationen in diesem Protokoll zu verwenden. Diese Konzentrationen führen vielmehr zu einer erhöhten unspezifischen Bindung und PCR-Produktamplifikation.

Tabelle 1: Primer und Sonden (angepasst aus Corman-Drosten-Papier; fehlerhafte Primerkonzentrationen sind hervorgehoben)

Assay/Use	Oligonucleotide	Sequence	Concentration
RdRp gene	RdRp_SARsR-F	GTGARATGGTCATGTGGGCGG	Use 600 nM per reaction
	RdRp_SARsR-P2	FAM-CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC-BBQ	Specific for 2019-nCoV, will not detect SARS-CoV. Use 100 nM per reaction and mix with P1
	RdRp_SARsR-P1	FAM-CCAGGTGGWACRTCATCGGTGATGC-BBQ	Pan Sarbeco-Probe will detect 2019-nCoV, SARS-CoV and bat-SARS-related CoVs. Use 100 nM per reaction and mix with P2
	RdRp_SARsR-R	CARATGTTAAASACACTATTAGCATA	Use 800 nM per reaction
E gene	E_Sarbeco_F	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT	Use 400 nM per reaction
	E_Sarbeco_P1	FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG-BBQ	Use 200 nM per reaction
	E_Sarbeco_R	ATATTGCAGCAGTACGCACACA	Use 400 nM per reaction
N gene	N_Sarbeco_F	CACATTGGCACCCGCAATC	Use 600 nM per reaction
	N_Sarbeco_P	FAM-ACCTCCTCAAGGAACAACATTGCCA-BBQ	Use 200 nM per reaction
	N_Sarbeco_R	GAGGAACGAGAAGAGGCTTG	Use 800 nM per reaction

W is A; R is G/A; G is A/C; S is G/C; FAM: 5-carboxyfluorescein; BBQ: blackberry quencher.
 * Optimised concentrations are given in nanomol per litre (nM) based on the final reaction mix, e.g. 1.5 µl of a 100 nM primer stock solution per 25 µl total reaction volume yields a final concentration of 600 nM as indicated in the table.

1b) Nicht spezifizierte ("Wackelige") Primer- und SONDENSEQUENZEN

Um reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, ist es wichtig, die Primerpaare eindeutig zu definieren. In der Corman-Drosten-Arbeit beobachteten wir sechs nicht spezifizierte Positionen, die durch die Buchstaben R, W, M und S angegeben sind (Tabelle 2). Der Buchstabe W bedeutet, dass an dieser Position entweder ein A oder ein T vorhanden sein kann; R bedeutet, dass es entweder ein G oder ein A geben kann; M zeigt an, dass die Position entweder ein A oder ein C sein kann; Der Buchstabe S zeigt an, dass sich an dieser Position entweder ein G oder ein C befinden kann.

Diese hohe Anzahl von Varianten ist nicht nur ungewöhnlich, sondern auch für Laboratorien äußerst verwirrend. Diese sechs nicht spezifizierten Positionen könnten leicht zum Design mehrerer verschiedener alternativer Primersequenzen führen, die sich nicht auf SARS-CoV-2 beziehen (2 verschiedene RdRp_SARSr_F-Primer + 8 verschiedene RdRp_SARS_P1-Sonden + 4 verschiedene RdRp_SARSr_R). Die Designvariationen führen unweigerlich zu Ergebnissen, die nicht einmal mit SARS CoV-2 zusammenhängen. Daher ist die verwirrende unspezifische Beschreibung im Corman-Drosten-Papier nicht als Standard-Betriebsprotokoll geeignet. Diese nicht spezifizierten Positionen sollten eindeutig entworfen worden sein.

Diese wackeligen Sequenzen haben bereits Anlass zur Sorge auf diesem Gebiet gegeben und zu einem Brief an den Herausgeber geführt, der von Pillonel et al. [8] zu offensichtlichen Fehlern in den beschriebenen Sequenzen. Diese Fehler sind bei Corman et al. Ergänzung auch.

Tabelle 2: Primer und Sonden (angepasst aus Corman-Drosten-Papier; nicht spezifizierte ("wackelige") Nukleotide in den Primern sind hervorgehoben)

Assay/Use	Oligonucleotide	Sequence	Concentration
RdRP gene	RdRp_SARSP-F	GTGARATGGTCATGTGGCGG	Use 600 nM per reaction
	RdRp_SARSP-P2	FAM-CAGGTGGAACTCATCAGGAGATGC-BBQ	Specific for 2019-nCoV, will not detect SARS-CoV.
	RdRp_SARSP-P1	FAM-CCAGGTGGAACTCATCAGGAGATGC-BBQ	Use 100 nM per reaction and mix with P1 Pan Sarbeco-Probe will detect 2019-nCoV, SARS-CoV and bat-SARS-related CoVs.
	RdRp_SARSP-R	CARATGTTAAACACTATTAGCATA	Use 100 nM per reaction and mix with P2
E gene	E_Sarbeco_F	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT	Use 500 nM per reaction
	E_Sarbeco_P1	FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG-BBQ	Use 400 nM per reaction
	E_Sarbeco_R	ATATTGCAGCAGTACGCACACA	Use 200 nM per reaction
N gene	N_Sarbeco_F	CACATTGGCACCCGAATC	Use 400 nM per reaction
	N_Sarbeco_P	FAM-ACTTCTCAAGGAACAACATTGCCA-BBQ	Use 600 nM per reaction
	N_Sarbeco_R	GAGGAACGAGAAGGCTTG	Use 200 nM per reaction

W is A/T; R is G/A; M is A/C; S is G/C. FAM: 5-carboxyfluorescein; BBQ: blackberry quencher.
 * Optimised concentrations are given in nanomol per litre (nM) based on the final reaction mix. e.g. 1.5 µl of a 20 µM primer stock solution per 25 µl total reaction volume yields a final concentration of 600 nM as indicated in the table.

Das WHO-Protokoll (Abbildung 1), das direkt aus dem Corman-Drosten-Papier stammt, kommt zu dem Schluss, dass zwei Kontrollgene (das E- und das RdRp-Gen) identifiziert werden müssen, um das Vorhandensein von SARS-CoV-2 zu bestätigen im Assay. Es ist zu beachten, dass das RdRp-Gen eine unsichere Position ("wackelig") im Vorwärtsprimer (R = G / A) und zwei unsichere Positionen im Rückwärtsprimer (R = G / A; S = G) aufweist / C) und es hat drei unsichere Positionen in der RdRp-Sonde (W = A / T; R = G / A; M = A / C). Somit können zwei verschiedene Vorwärtsprimer, vier verschiedene Rückwärtsprimer und acht verschiedene Sonden für das RdRp-Gen synthetisiert werden. Zusammen gibt es 64 mögliche Kombinationen von Primern und Sonden!

Das Corman-Drosten-Papier identifiziert ferner ein drittes Gen, das gemäß dem WHO-Protokoll nicht weiter validiert und als unnötig erachtet wurde:

"Bemerkenswerterweise zeigte der N-Gen-Assay ebenfalls eine gute Leistung, wurde jedoch keiner intensiven weiteren Validierung unterzogen, da er etwas weniger empfindlich war."

Dies war eine unglückliche Auslassung, da es am besten wäre, alle drei Gen-PCRs als Bestätigungstests zu verwenden, und dies hätte zu einem nahezu ausreichenden Diagnose-Tool-Protokoll für den Virus-RNA-Nachweis geführt. Drei bestätigende Testschritte würden zumindest Fehler und Unsicherheiten bei jedem Faltschritt in Bezug auf "Wackelige" Flecken minimieren. (Trotzdem würde das Protokoll unter Berücksichtigung aller anderen Konstruktionsfehler immer noch hinter jeder „guten Laborpraxis“ zurückbleiben.)

Derzeit wird der N-Gen-Assay leider weder in der WHO-Empfehlung (Abbildung 1) als obligatorischer und entscheidender dritter Bestätigungsschritt vorgeschlagen, noch im Corman-Drosten-Papier als wichtige optionale Bestätigung „für einen Routine-Workflow“ hervorgehoben. (Tabelle 2).

Folglich wurden in fast allen Testverfahren weltweit anstelle von allen drei lediglich zwei Primer-Übereinstimmungen verwendet. Dieses Versehen macht das gesamte Testprotokoll unbrauchbar, um bei einer anhaltenden Pandemie genaue Testergebnisse von wirklicher Bedeutung zu liefern.

Abbildung 1: Der N-Gen-Bestätigungstest wird weder als notwendiger dritter Schritt in der offiziellen Empfehlung des WHO-Protokolls Drosten-Corman [8] hervorgehoben noch als entscheidender Schritt für eine höhere Testgenauigkeit in der Eurosurveillance-Veröffentlichung benötigt.

Background

We used known SARS- and SARS-related coronaviruses (bat viruses from our own studies as well as literature sources) to generate a non-redundant alignment (excerpts shown in Annex). We designed candidate diagnostic RT-PCR assays before release of the first sequence of 2019-nCoV. Upon sequence release, the following assays were selected based on their matching to 2019-nCoV as per inspection of the sequence alignment and initial evaluation (Figures 1 and 2).

All assays can use SARS-CoV genomic RNA as positive control. Synthetic control RNA for 2019-nCoV E gene assay is available via EVAg. Synthetic control for 2019-nCoV RdRp is expected to be available via EVAg from Jan 21st onward.

First line screening assay: E gene assay

Confirmatory assay: RdRp gene assay

1c) Fehlerhafter GC-Gehalt (diskutiert in 2c zusammen mit der Tempertemperatur (T_m))

1d) Nachweis von viralen Genen

Die RT-PCR wird für die Primärdiagnose einer Infektion nicht empfohlen. Aus diesem Grund ist der in der klinischen Routine zum Nachweis von COVID-19 verwendete RT-PCR-Test für die COVID-19-Diagnose auf regulatorischer Basis nicht indiziert.

„Ärzte müssen die verbesserte Genauigkeit und Geschwindigkeit der molekulardiagnostischen Techniken zur Diagnose von Infektionen

erkennen, aber auch ihre Grenzen verstehen. Laborergebnisse sollten immer im Zusammenhang mit der klinischen Präsentation des Patienten interpretiert werden, und für zuverlässige Testergebnisse sind der geeignete Ort, die Qualität und der Zeitpunkt der Probenentnahme erforderlich.“ [9]

Es kann jedoch verwendet werden, um die Differentialdiagnose des Arztes zu erleichtern, wenn er zwischen verschiedenen Infektionen der Lunge unterscheiden muss (Grippe, Covid-19 und SARS haben sehr ähnliche Symptome). Für eine bestätigende Diagnose eines bestimmten Virus müssen mindestens 3 spezifische Primerpaare angewendet werden, um 3 virusspezifische Gene nachzuweisen. Vorzugsweise sollten diese Zielgene mit dem größtmöglichen Abstand im viralen Genom lokalisiert sein (entgegengesetzte Enden eingeschlossen).

Obwohl das Corman-Drosten-Papier 3 Primer beschreibt, decken diese Primer nur ungefähr die Hälfte des Virusgenoms ab. Dies ist ein weiterer Faktor, der die Spezifität für den Nachweis intakter COVID-19-Virus-RNA verringert und das Zitat falsch positiver Testergebnisse erhöht.

Selbst wenn wir in einer Probe drei positive Signale erhalten (dh die drei Primerpaare ergeben 3 verschiedene Amplifikationsprodukte), beweist dies nicht das Vorhandensein eines Virus. Ein besseres Primerdesign hätte terminale Primer an beiden Enden des viralen Genoms. Dies liegt daran, dass das gesamte virale Genom abgedeckt wäre und drei positive Signale besser zwischen einem vollständigen (und damit potenziell infektiösen) Virus und fragmentierten viralen Genomen (ohne infektiöse Potenz) unterscheiden können. Um auf etwas von Bedeutung für die Infektiosität des Virus schließen zu können, sollte das Orf1-Gen, das das essentielle Replikaseenzym von SARS-CoV-Viren codiert, als Ziel aufgenommen werden (Abbildung 2). Die Positionierung der Ziele in der Region des viralen Genoms, die am stärksten und variabel transkribiert wird, ist eine weitere Schwäche des Protokolls.

Kim et al. zeigen eine hochvariable 3'-Expression von subgenomischer RNA in Sars-CoV-2 [23]. Diese RNAs werden aktiv als Signaturen für asymptomatische und nicht infektiöse Patienten überwacht [10]. Es ist höchst fraglich, eine Population von asymptomatischen Personen mit qPCR-Primern zu screenen, die 6 Basenpaare Primer-Dimer am 3-Primer-Ende eines Primers aufweisen (Abbildung 3).

Anscheinend empfiehlt die WHO diese Primer. Wir haben alle Wobble-Derivate aus dem Corman-Drosten-Papier mit dem Primer-Dimer-Web-Tool von Thermofisher getestet [11]. Der RdRp-Forward-Primer weist eine 6-bp-3-Prime-Homologie mit Sarbeco E Reverse auf. Bei hohen Primerkonzentrationen reicht dies aus, um Ungenauigkeiten zu erzeugen.

Bemerkenswert: Es gibt eine perfekte Übereinstimmung eines der N-Primer mit einem klinischen Pathogen (Pantoea), das bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem gefunden wurde. Der Reverse Primer trifft ebenfalls auf Pantoea, jedoch nicht in derselben Region (Abbildung 3).

Dies sind schwerwiegende Designfehler, da der Test nicht zwischen dem gesamten Virus und viralen Fragmenten unterscheiden kann. Der Test kann nicht als Diagnose für SARS-Viren verwendet werden.

Abbildung 2: Relative Positionen von Amplikonzielen auf dem SARS-Coronavirus und dem neuartigen Coronavirus-Genom von 2019. ORF: offener Leserahmen; RdRp: RNA-abhängige RNA-Polymerase. Zahlen unter dem Amplikon sind Genompositionen gemäß SARS-CoV, NC_004718 [1];

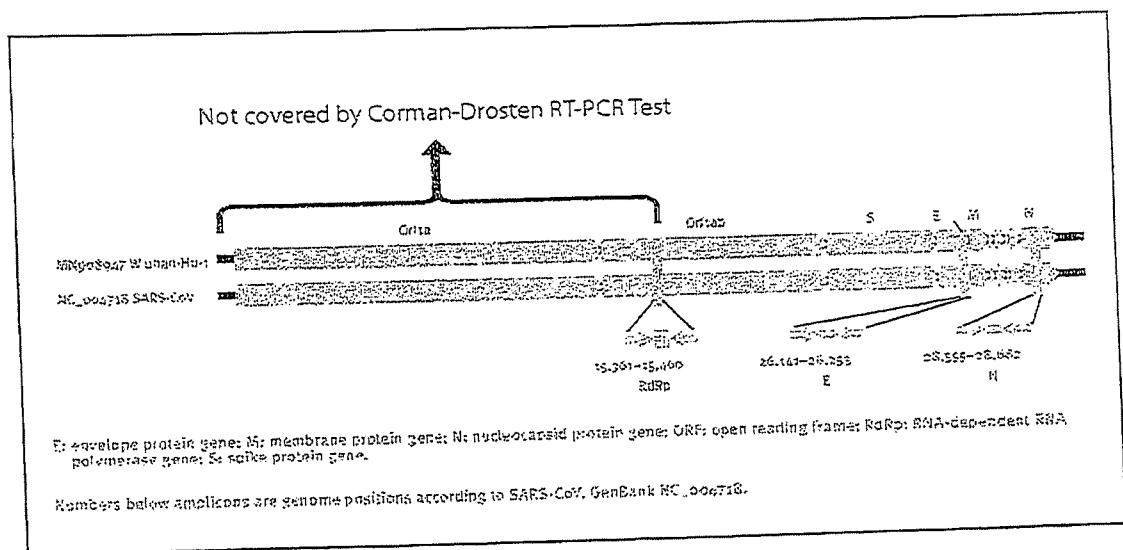


Abbildung 3: Ein Test mit dem Thermofischer Primer Dimer Web Tool zeigt, dass der RdRp Forward Primer eine 6bp 3'prime Homologie mit Sarbeco E Reverse aufweist (linkes Kästchen). Ein weiterer Test zeigt, dass einer der N-Primer perfekt zu einem klinischen Pathogen (Pantoea) passt, das bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem gefunden wurde (rechtes Kästchen).

18. Wahlperiode

Schriftliche Anfrage

des Abgeordneten Andreas Wild

vom 22. Dezember 2020 (Eingang beim Abgeordnetenhaus am 28. Dezember 2020)

zum Thema:

Können bisherige PCR-Tests COVID19-Viren von anderen Grippeviren unterscheiden?

und **Antwort** vom 13. Januar 2021 (Eingang beim Abgeordnetenhaus am 14. Jan. 2021)

Senatsverwaltung für Gesundheit,
Pflege und Gleichstellung

Herrn Abgeordneten Andreas Wild

über

den Präsidenten des Abgeordnetenhauses von Berlin

über Senatskanzlei - G Sen -

A n t w o r t

auf die Schriftliche Anfrage Nr. 18/25991

vom 22. Dezember 2020

über Können bisherige PCR-Tests COVID19-Viren von anderen Grippe unterscheiden?

Im Namen des Senats von Berlin beantworte ich Ihre Schriftliche Anfrage wie folgt:

Medien berichten, "das französische Diagnostikunternehmen Biomerieux hat nach eigenen Angaben die Zertifizierung für den Verkauf eines Tests erhalten, mit dem eine Coronavirus-Erkrankung von einer Grippe unterschieden werden kann."

Bedeutet dies, dass mit dem bisherigen PCR Tests eine solche Unterscheidung nicht möglich ist?

Antwort:

Ein PCR-Test kann generell nur das Erbgut eines bestimmten Virus bzw. Bakteriums hochspezifisch nachweisen. Eine *Unterscheidung* zwischen verschiedenen Viren bzw. Bakterien ist damit nie möglich, sondern jeder differentialdiagnostisch in Frage kommende Keim muss durch einen spezifischen Labortest gesondert getestet werden. Auswahl und Anforderung der einzelnen notwendigen Labortests ist eine genuin ärztliche Aufgabe. Wie auf der Webseite der Firma bioMérieux dargestellt, handelt es sich bei dem erwähnten Produkt um die Kombination von 23 einzelnen PCR-Testkits, bei dem damit mit *einem* Labordurchgang automatisiert und gleichzeitig auf 19 virale und 4 bakterielle Erreger der oberen Atemwege inklusive SARS-CoV-2, Influenza etc. getestet werden kann. Das ermöglicht gerade in der Erkältungssaison eine rasche und Laborressourcen sparende schnelle und effektivere Differentialdiagnostik als der Einsatz von Einzeltests. Es handelt sich also hier ebenfalls um PCR-Tests, die die hohe Wertigkeit dieses Testverfahrens unterstreichen.

Berlin, den 13. Januar 2021

In Vertretung

Martin Matz

Senatsverwaltung für Gesundheit,
Pflege und Gleichstellung

A 15

- [American Journal of Roentgenology](#) >
- [Volume 216, Issue 1](#) >
- CT Manifestations of Coronavirus Disease (COVID-19) Pneumonia and Influenza Virus Pneumonia: A Comparative Study



January 2021, Volume 216, Number 1

[« Previous Article](#) | [Next Article »](#)

Cardiothoracic Imaging

Original Research

CT Manifestations of Coronavirus Disease (COVID-19) Pneumonia and Influenza Virus Pneumonia: A Comparative Study

January 2021,
VOLUME 216
NUMBER 1

Liaoyi Lin, MD¹, Gangze Fu, MD¹, Shuangli Chen, MD¹, Jiejie Tao, MD¹, Andan Qian, MD¹, Yunjun Yang, PhD¹ and Meihao Wang, PhD¹ [Show less ... Show all](#)

[Current](#) | [Available](#)

[Share](#)

+ [Affiliation:](#)

Related Articles

¹Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325000, China

Articles citing this article:

Citation: American Journal of Roentgenology. 2021;216: 71-79. 10.2214/AJR.20.23304

• [Google Scholar](#)

- [Abstract](#)
- [Full Text](#)
- [Figures](#)
- [References](#)
- [PDF](#)
- [PDF Plus](#)
- [Add to Favorites](#)
- [Permissions](#)
- [Download Citation](#)

Search for other articles:

By keyword

- COVID-19
- infection
- CT
- pneumonia
- influenza virus
- imaging

features

- coronavirus disease
- novel coronavirus



ABSTRACT :

AJR [PODCASTS](#) iTunes / Google Play

To listen to the podcast associated with this article, please select one of the following: iTunes, [Google Play](#), or [direct download](#).

By author

- Shuangli Chen
 - Meihao Wang
 - Jiejie Tao
 - Yunjun Yang
- OBJECTIVE.** The purpose of this study was to investigate differences in CT manifestations of coronavirus disease (COVID-19) pneumonia and those of influenza virus pneumonia.

- Gangze Fu
- Andan Qian
- Liaoyi Lin

Search in

- AJR
- Google

Scholar

Recommend & Share

MATERIALS AND METHODS. We conducted a retrospective study of 52 patients with COVID-19 pneumonia and 45 patients with influenza virus pneumonia. All patients had positive results for the respective viruses from nucleic acid testing and had complete clinical data and CT images. CT findings of pulmonary inflammation, CT score, and length of largest lesion were evaluated in all patients. Mean density, volume, and mass of lesions were further calculated using artificial intelligence software. CT findings and clinical data were evaluated.

RESULTS. Between the group of patients with COVID-19 pneumonia and the group of patients with influenza virus pneumonia, the largest lesion close to the pleura (i.e., no pulmonary parenchyma between the lesion and the pleura), mucoid impaction, presence of pleural effusion, and axial distribution showed statistical difference ($p < 0.05$). The properties of the largest lesion, presence of ground-glass opacity, presence of consolidation, mosaic attenuation, bronchial wall thickening, centrilobular nodules, interlobular septal thickening, crazy paving pattern, air bronchogram, unilateral or bilateral distribution, and longitudinal distribution did not show significant differences ($p > 0.05$). In addition, no significant difference was seen in CT score, length of the largest lesion, mean density, volume, or mass of the lesions between the two groups ($p > 0.05$).

CONCLUSION. Most lesions in patients with COVID-19 pneumonia were located in the peripheral zone and close to the pleura, whereas influenza virus pneumonia was more prone to show mucoid impaction and pleural effusion. However, differentiating between COVID-19 pneumonia and influenza virus pneumonia in clinical practice remains difficult.

Keywords: [coronavirus disease](#), [COVID-19](#), [CT](#), [imaging features](#), [infection](#), [influenza virus](#), [novel coronavirus](#), [pneumonia](#)

References

: Choose

1. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med* 2020; 382:1199–1207 [[Crossref](#)] [[Medline](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Chung M, Bernheim A, Mei X, et al. CT imaging features of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Radiology* 2020; 295:202–207 [[Crossref](#)] [[Medline](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Li Y, Xia L. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): role of chest CT in diagnosis and management. *AJR* 2020; 214:1280–1286 [[Abstract](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Zhao W, Zhong Z, Xie X, Yu Q, Liu J. Relation between chest CT findings and clinical conditions of coronavirus disease (COVID-19) pneumonia: a multi-center study. *AJR* 2020; 214:1072–1077 [[Abstract](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Zu ZY, Jiang MD, Xu PP, Chen W, Ni QQ. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a perspective from China. *Radiology* 2020 Feb 21 [Epub ahead of print] [[Google Scholar](#)]
6. Zhou S, Wang Y, Zhu T, Xia L. CT features of coronavirus disease 2019 (COVID-19) pneumonia in 62 patients in Wuhan, China. *AJR* 2020; 214:1287–1294 [[Abstract](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Wang Q, Zhang Z, Shi Y, Jiang Y. Emerging H7N9 influenza A (novel reassortant avian-origin) pneumonia: radiologic findings. *Radiology* 2013; 268:882–889 [[Crossref](#)] [[Medline](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Yuan Y, Tao XF, Shi YX, Liu SY, Chen JQ. Initial HRCT findings of novel influenza A (H1N1) infection. *Influenza Other Respir Viruses* 2012; 6:e114–e119 [[Crossref](#)] [[Medline](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Yao J, Dwyer A, Summers RM, Mollura DJ. Computer-aided diagnosis of pulmonary infections using texture analysis and support vector machine classification. *Acad Radiol* 2011; 18:306–314 [[Crossref](#)] [[Medline](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Xu YH, Dong JH, An WM, et al. Clinical and computed tomographic imaging

UNCUT-NEWS

(<https://uncut-news.ch/>)

UNABHÄNGIGE NEWS UND INFOS



COVID-19 Testskandal weitert sich Weltweit aus

[uncut-news.ch\(https://uncut-news.ch/author/uncut-news-ch/\)](https://uncut-news.ch/author/uncut-news-ch/) |

□ Dezember 18, 2020(<https://uncut-news.ch/2020/12/18/>)

Die Zahl der Experten, die PCR-Massentests als leichtsinnig und unsinnig, wenn nicht gar kriminell anprangern, nimmt zu

PCR-Tests können nicht zwischen „lebenden“ Viren und inaktiven (nicht infektiösen) Viruspartikeln unterscheiden und können daher nicht als diagnostisches Hilfsmittel eingesetzt werden. Sie können auch nicht bestätigen, dass 2019-nCoV der Erreger der klinischen Symptome ist, da der Test Krankheiten, die durch andere bakterielle oder virale Erreger verursacht werden, nicht ausschließen kann

Die Tests haben außergewöhnlich hohe Falschbefundraten. Je höher die Zyklusschwelle (CT) – d. h. die Anzahl der Amplifikationszyklen, die zum Nachweis von RNA-Partikeln verwendet werden – desto größer ist die Chance eines falsch positiven Ergebnisses. Ab 34 Zyklen sinkt die Chance, dass ein positiver PCR-Test ein echtes Positiv ist, auf Null.

Florida war kürzlich der erste Staat, der von allen Laboren im Staat verlangte, die für ihre PCR-Tests verwendeten CTs anzugeben

Der SARS-CoV-2 PCR-Test wurde auf der Grundlage einer von chinesischen Wissenschaftlern veröffentlichten genetischen Sequenz entwickelt, nicht des Virusisolats. Fehlender genetischer Code wurde einfach erfunden

Positive Reverse-Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR)-Tests wurden als Rechtfertigung dafür verwendet, große Teile der Welt in den letzten neun Monaten abgeschottet zu halten. Nicht verlässliche Hospitalisierungs- oder Todesraten, sondern einfach nur positive PCR-Testzahlen – von denen ein großer Teil von Menschen stammt, die keine Symptome einer tatsächlichen Krankheit haben – sind die Auslöser für die Abschaltungen.

Nun melden sich immer mehr Experten zu Wort, die die massenhaften PCR-Tests als töricht und unsinnig, wenn nicht gar kriminell anprangern. Und warum? Weil wir jetzt feststellen, dass PCR-Tests selten etwas wirklich Brauchbares aussagen, zumindest nicht, wenn sie so eingesetzt werden,

wie sie bisher eingesetzt wurden.

Warum PCR-Tests das falsche Mittel zur Einschätzung der Pandemie-Bedrohung sind

Wir wissen jetzt, dass PCR-Tests:

1. Kann nicht zwischen „lebenden“ Viren und inaktiven (nicht infektiösen) Viruspartikeln unterscheiden und kann daher nicht als Diagnoseinstrument verwendet werden – aus diesem Grund ist es grob irreführend, einen positiven Test als „COVID-19-Fall“ zu bezeichnen.

Wie Dr. Lee Merritt in ihrem Vortrag „How Medical Technocracy Made the Pandemic Possible“ (Wie die medizinische Technokratie die Pandemie ermöglichte) im August 2020 bei Doctors for Disaster Preparedness¹ erklärte, scheinen die Medien und die Vertreter des öffentlichen Gesundheitswesens absichtlich „Fälle“ oder positive Tests mit der tatsächlichen Krankheit zu verwechseln.

Medizinisch gesprochen, bezieht sich ein „Fall“ auf eine kranke Person. Es bezog sich nie auf jemanden, der keine Krankheitssymptome hatte. Jetzt auf einmal, diese gut etablierten medizinischen Begriff, „Fall“, wurde willkürlich

neu definiert, um jemanden, der positiv für das Vorhandensein von nicht-infektiösen viralen RNA getestet bedeuten. Wie Merritt bemerkte: „Das ist keine Epidemiologie. Das ist Betrug.“

2. Kann nicht bestätigen, dass 2019-nCoV der Erreger der klinischen Symptome ist, da der Test Krankheiten, die durch andere bakterielle oder virale Erreger verursacht werden, nicht ausschließen kann.
3. Sind nicht für die Überwachung der Behandlung einer 2019-nCoV-Infektion etabliert.
4. Sie haben eine außergewöhnlich hohe Falsch-Ergebnis-Rate – Je höher der Cycle Threshold (CT) ist – d. h. die Anzahl der Amplifikationszyklen, die zum Nachweis von RNA-Partikeln verwendet werden -, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses.

Während jeder CT über 35 als wissenschaftlich nicht vertretbar gilt, empfehlen die U.S. Food and Drug Administration und die U.S. Centers for Disease Control and Prevention die Durchführung von PCR-Tests mit einem CT von 40.5

Drosten-Tests und von der Weltgesundheitsorganisation empfohlene Tests sind auf einen CT von 45 eingestellt. Diese übermäßig hohen CTs garantieren den Anschein einer weit verbreiteten (pandemischen) Infektion, wenn die Infektionsraten in Wirklichkeit niedrig sind.

Das CT ist der Schlüssel zur Pandemie

Viele, wenn nicht sogar die meisten Labore, amplifizieren die gesammelte RNA viel zu oft, was dazu führt, dass gesunde Menschen „positiv“ auf eine SARS-CoV-2-Infektion getestet und angewiesen werden, der Arbeit fernzubleiben und sich zwei Wochen lang selbst zu isolieren.

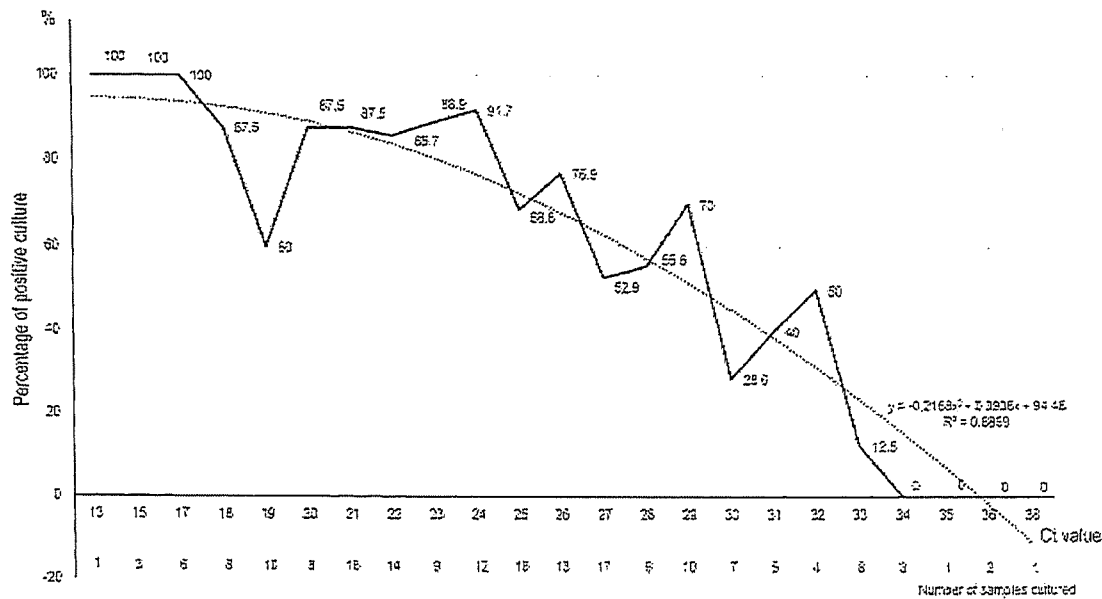
Um die Genauigkeit zu optimieren und gesunde Menschen nicht unnötig zu belasten, müssen PCR-Tests mit weit weniger Zyklen als den derzeit empfohlenen 40 bis 45 CTs durchgeführt werden.

Nach 34 Zyklen sinkt die Chance, dass ein positiver PCR-Test ein echtes Positiv ist, auf Null

Eine Studie vom April 2020 im European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases zeigte, dass der PCR-Test mit 17 Zyklen durchgeführt werden muss, um 100 % bestätigte echte Positive zu erhalten. Oberhalb von 17 Zyklen sinkt die Genauigkeit dramatisch.

Bei 33 Zyklen liegt die Genauigkeit bei nur noch 20 %, d. h. 80 % sind falsch positiv. Ab 34 Zyklen sinkt die Chance, dass ein positiver PCR-Test ein echtes Positiv ist, auf Null, wie in der folgenden Grafik aus dieser Studie dargestellt.

Wenn man PCR-Tests mit 40 bis 45 Amplifikationszyklen durchführt, entsteht der falsche Anschein eines Ausbruchs, und dieses grob fehlerhafte Testschema ist es, auf das die Regierungsvertreter ihre Maskenmandate und Abriegelungsbefehle stützen.



(./COVID-19 Testskandal weitete sich Weltweit aus - uncut-news.ch.html v. 18.12.2020_files/percentage-of-positive-viral-culture.webp)

Prozentualer Anteil positiver Viruskulturen von SARS-CoV-2 PCR-positiven nasopharyngealen Proben von Covid-19-Patienten, entsprechend dem Ct-Wert (durchgezogene Linie). Die gestrichelte Kurve zeigt die polynomiale Regressionskurve.

Wissenschaftlicher Bericht bestätigt PCR-Fehler

Kürzlich wurden in einer systematischen Übersichtsarbeit, die am 3. Dezember 2020 im Journal of Clinical Infectious Diseases veröffentlicht wurde, die Ergebnisse von 29 verschiedenen Studien – die alle im Jahr 2020 veröffentlicht wurden – bewertet, in denen der Nachweis einer SARS-CoV-2-Infektion mit den beim Test verwendeten CTs verglichen wurde. Sie untersuchten auch den Zeitpunkt des Tests und wie die Symptomschwere mit den PCR-Testergebnissen zusammenhängt. Wie von den Autoren berichtet:

„Die Daten deuten auf einen Zusammenhang zwischen der Zeit vom Auftreten der Symptome bis zum Zeitpunkt der Probenuntersuchung, der Zyklusschwelle (CT) und der Symptomschwere hin. Zwölf Studien berichteten, dass die CT-Werte signifikant niedriger und die log-Kopien höher waren bei Proben, die eine Lebendvirkultur hervorbrachten.“

Zwei Studien berichteten, dass die Wahrscheinlichkeit einer Lebendvirus-Kultur um ca. 33 % für jede Erhöhung des CT um eine Einheit abnahm. Sechs von acht Studien berichteten über nachweisbare RNA für länger als 14 Tage, aber das infektiöse Potenzial nahm nach Tag 8 ab, selbst bei Fällen mit anhaltend hoher Viruslast ...“

Mit anderen Worten: Wenn Sie Symptome von COVID-19 haben, beginnt am 8. Tag nach Auftreten der Symptome die Wahrscheinlichkeit, dass Sie die Krankheit auf andere übertragen, zu sinken, und in den folgenden Tagen ist es unwahrscheinlich, dass Sie infektiös sind, selbst wenn Sie noch positiv getestet werden. Dies gilt insbesondere dann, wenn der PCR-Test eine höhere als die ideale CT verwendet. Wie von den Autoren angemerkt

„Für die Übertragung sind vollständige Lebendviren notwendig, nicht die durch PCR identifizierte Fragmente. Die Zuverlässigkeit der PCR zur Beurteilung des infektiösen Potenzials sollte durch prospektive Routinetests von Referenz- und Kulturproben und deren Beziehung zu Symptomen, Anzeichen und Co-Faktoren des Patienten bestimmt werden. Bei Proben mit hoher Zyklusschwelle ist es unwahrscheinlich, dass sie infektiöses Potenzial haben.“

Lebendes Virus unwahrscheinlich bei Tests mit CT von über 24

Laut der New York Times waren Forscher „nicht in der Lage, das Coronavirus aus Proben von Freiwilligen zu züchten, deren PCR-Tests CT-Werte über 27 aufwiesen“, und wenn sich das Virus nicht vermehren kann, werden Sie nicht krank und sind nicht infektiös, können es also nicht auf andere übertragen.

Die Zeitschrift Clinical Infectious Diseases bestätigt dies. Unter der Überschrift „The Relationship Between RT-PCR Results and Viral Culture of SARS-CoV-2,“ weisen sie darauf hin, dass in Studien, die korrekt infektiöse Patienten identifizierten, „signifikant niedrigere“ CTs verwendet wurden.

Fünf der eingeschlossenen Studien konnten in Fällen, in denen ein positiver

PCR-Test einen CT über 24 verwendet hatte, keine lebenden Viren identifizieren. Darüber hinaus musste ein Patient, dessen PCR-Test einen CT bei oder über 35 verwendete, symptomatisch sein, um eine Kultur mit lebenden Viren zu erzeugen.

Wenn Sie also Symptome von COVID-19 haben und mit einem PCR-Test, der mit 35 oder mehr Amplifikationszyklen durchgeführt wurde, positiv getestet wurden, dann sind Sie wahrscheinlich infiziert und infektiös.

Wenn Sie jedoch keine Symptome haben, aber mit einem PCR-Test, der mit 35 oder mehr Amplifikationszyklen durchgeführt wurde, positiv getestet wurden, dann handelt es sich wahrscheinlich um ein falsches Positiv und Sie stellen kein Risiko für andere dar, da es unwahrscheinlich ist, dass Sie ein lebendes Virus tragen. Solange Sie asymptomatisch sind, ist es sogar unwahrscheinlich, dass Sie infektiös sind, selbst wenn Sie bei einem Testlauf mit 24 CTs oder höher positiv sind.

Auch das Timing des PCR-Tests spielt eine Rolle

Die Überprüfung durch Clinical Infectious Diseases bestätigte auch, dass der Zeitpunkt des Tests wichtig ist. Laut den Autoren:

„... es scheint ein Zeitfenster zu geben, in dem der RNA-Nachweis am höchsten ist, mit einer niedrigen Zyklusschwelle und einer höheren Wahrscheinlichkeit, ein lebendes Virus zu kultivieren, mit der Viruslast und der Wahrscheinlichkeit, dass ein lebendes Virus von SARS-CoV2 wächst ...

Wir schlagen vor, dass weitere Arbeiten zu diesem Thema durchgeführt werden sollten, mit dem Ziel, einen Algorithmus zur Integration der Ergebnisse der PCR mit anderen Variablen zu konstruieren, um die Effektivität der Erkennung von infektiösen Patienten zu erhöhen.“

Eine weitere wissenschaftliche Übersichtsarbeit, die untersuchte, wie der Zeitpunkt des Tests die Ergebnisse und Ihr Risiko, infektiös zu sein, beeinflusst, wurde auf dem Preprint-Server medRxiv am 29. September 2020 veröffentlicht. Vierzehn Studien wurden in diese Übersichtsarbeit

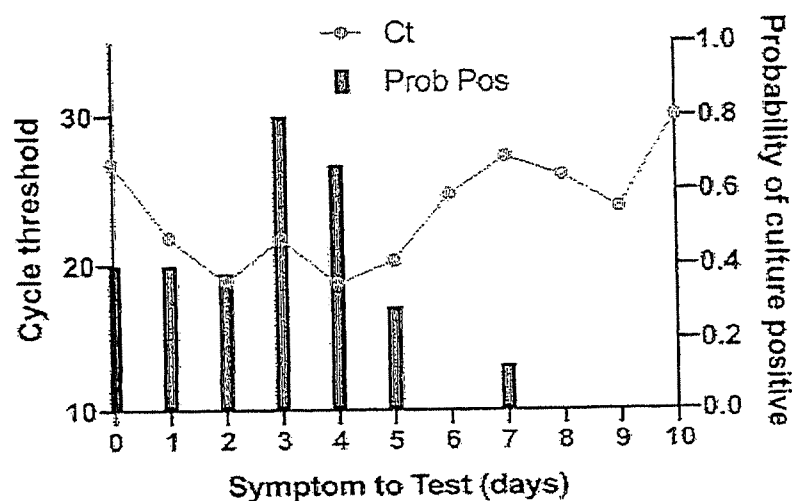
einbezogen.

Die Daten zeigen, dass Ihre Chancen, am ersten Tag nach Auftreten der COVID-19-Symptome ein echtes Positiv zu erhalten, nur etwa 40 % betragen. Erst am 3. Tag nach Symptombeginn haben Sie eine 80%ige Chance, ein genaues PCR-Ergebnis zu erhalten.

Am fünften Tag sinkt die Genauigkeit beträchtlich und am achten Tag ist die Genauigkeit gleich Null. Dies sind symptomatische Menschen. Wenn Sie asymptomatisch sind, ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein positiver PCR-Test korrekt ist, praktisch gleich null.

Die untenstehende Grafik aus einer der in der Übersichtsarbeit enthaltenen Studien (Bullard et. al.) veranschaulicht die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient infektiös ist (mit lebenden Viren), basierend auf dem verwendeten CT und dem Zeitpunkt des Tests. Wie von den Autoren des Reviews erklärt:

„Die Abbildung ... zeigt, wie die Wahrscheinlichkeit eines infektiösen SARS-CoV-2-Virus größer ist (die roten Balken), wenn die Zyklusschwelle niedriger ist (die blaue Linie) und wenn die Zeit von den Symptomen bis zum Test kürzer ist – jenseits von 8 Tagen wurde kein lebendes Virus nachgewiesen.“



(./COVID-19 Testskandal weitet sich Weltweit aus - uncut-news.ch.html v. 18.12.2020_files/probability-of-a-patient-being-infectious.jpg)

Florida verlangt die Offenlegung von CT-Daten

Obwohl die Gesundheitsbehörden wissen, dass hohe CTs zu einer hohen Rate an falsch-positiven Ergebnissen führen, geben sie nicht an, welche CTs für die PCR-Tests verwendet werden, die sie melden. Glücklicherweise wird sich das in Florida bald ändern, das gerade als erster Bundesstaat alle Labore im Bundesstaat dazu verpflichtet hat, die für ihre PCR-Tests verwendeten CTs anzugeben.

Das Gesundheitsministerium von Florida hat die Anordnung am 3. Dezember 2020 erlassen, und die Labore müssen der neuen Meldepflicht innerhalb von sieben Tagen nachkommen.

Dies könnte sich als recht interessant erweisen, insbesondere wenn das Gesundheitsamt des Bundesstaates beschließt, positive Ergebnisse von Tests, die oberhalb einer bestimmten Amplifikationsschwelle durchgeführt

wurden, für ungültig zu erklären. Die Zeit wird zeigen, wie genau diese Meldepflicht die Maßnahmen zur Pandemiebekämpfung, wie z. B. Maskenpflicht und Abriegelung, beeinflussen wird.

Portugal entscheidet: Quarantäne aufgrund von PCR-Ergebnissen ist rechtswidrig

In diesem Zusammenhang hat ein Berufungsgericht in Portugal kürzlich entschieden, dass der PCR-Test „kein zuverlässiger Test für SARS-CoV-2“ ist und dass „ein einzelner positiver PCR-Test nicht als effektive Diagnose der Infektion verwendet werden kann.“ Daher ist „jede erzwungene Quarantäne, die auf den Ergebnissen basiert, rechtswidrig „.

Das Gericht merkte auch an, dass es eine Verletzung des Grundrechts auf Freiheit sein könnte, gesunde Menschen zur Selbstisolierung zu zwingen.

Der Fall wurde von vier deutschen Touristen angestrengt, die zur Selbstquarantäne gezwungen worden waren, nachdem einer von ihnen positiv getestet worden war.

Mehrere wissenschaftliche Studien wurden als Beweise in diesem Fall vorgebracht, darunter eine Studie vom 28. September 2020 in *Clinical Infectious Diseases*, die herausfand, dass die Genauigkeit eines PCR-Tests bei einem CT von 35 oder höher auf 3 % sinkt, was zu einer 97 %igen falsch-positiven Rate führt. Das Gericht entschied, dass basierend auf der vorgelegten Wissenschaft jeder PCR-Test, der einen CT über 25 verwendet, unzuverlässig ist.

Fatale Fehler im Papier gefunden, auf dem der PCR-Test basiert

Das portugiesische Berufungsgericht steht mit seiner Kritik an der Verwendung des PCR-Tests als alleiniges Kriterium für die Quarantäne nicht alleine da. Am 30. November 2020 wurde die wissenschaftliche Abhandlung, die den Arbeitsablauf bei der Verwendung des PCR-Tests zur Diagnose einer SARS-CoV-2-Infektion beschreibt – und die von der WHO schnell als

Standard akzeptiert und weltweit angewandt wurde – von 22 internationalen Wissenschaftlern angefochten, die verlangen, dass die Abhandlung wegen „fataler Fehler“ zurückgezogen wird.

Das fragliche Papier wurde von Christian Drosten, Ph.D., einem deutschen Virologen, und Victor Corman geschrieben, der eine deutsche Arbeitsgruppe für Virusdiagnostik und klinische Virologie leitet. Laut Reiner Fuellmich, Gründungsmitglied des deutschen Außerparlamentarischen Corona Untersuchungsausschusses, oder ACU, ist Drosten einer der Hauptverantwortlichen für den COVID-19 Pandemie-Hoax.

Einer der wichtigsten „fatalen Fehler“ im Corman-Drosten-Papier ist, dass sie es schrieben – und den PCR-Test entwickelten – bevor irgendein Virusisolat verfügbar war. Alles, was sie verwendeten, war die genetische

Sequenz, die von chinesischen Wissenschaftlern im Januar 2020 online veröffentlicht wurde.

Interessanterweise wurde das Papier nur 24 Stunden nach seiner Einreichung veröffentlicht, was darauf hindeutet, dass es nicht einmal einer Peer-Review unterzogen wurde, bevor es von der ganzen Welt angenommen wurde. Undercover DC interviewte Kevin Corbett, Ph.D., einer der 22 Wissenschaftler, die jetzt den Rückzug des Papiers fordern, der erklärte:

„Jede wissenschaftliche Begründung für die Entwicklung dieses Tests ist durch dieses Papier völlig zerstört worden. Es ist wie Hiroshima/Nagasaki für den COVID-Test.“

Als Drosten den Test entwickelte, hatte China ihnen kein Virusisolat zur Verfügung gestellt. Sie entwickelten den Test aus einer Sequenz in einer Genbank. Verstehen Sie? China gab ihnen eine Gensequenz, aber kein entsprechendes Virusisolat. Sie hatten einen Code, aber keinen Körper für den Code. Keine virale Morphologie.

Auf dem Fischmarkt ist es so, als würde man Ihnen ein paar Gräten geben und sagen: „Das ist Ihr Fisch. Es könnte jeder Fisch sein... Hören Sie, in der Corman-Drosten-Arbeit steht nichts von einem Patienten drin. Es ist alles

aus Genbanken. Und die Teile der Virussequenz, die nicht da waren, haben sie erfunden.

Sie haben sie synthetisch erzeugt, um die Lücken zu füllen. Das ist es, was Genetik ist. Ein Code. Also, es ist ABBBCCDDD und Ihnen fehlt etwas, was Sie für EEE halten, also fügen Sie es ein ... Das ist im Grunde ein Computervirus.

Es sind 10 fatale Fehler in diesem Drosten-Testpapier ... Aber hier ist die Quintessenz: Es gab kein virales Isolat, um zu validieren, was sie taten. Die PCR-Produkte der Amplifikation entsprachen zu diesem Zeitpunkt keinem viralen Isolat. Ich nenne es „Donut-Ring-Wissenschaft“. Es gibt nichts, was den Kern der Sache ausmacht. Es geht nur um Code, Genetik, hat nichts mit der Realität zu tun ...

Seitdem gibt es Papiere, die besagen, dass sie virale Isolate produziert haben. Aber es gibt keine Kontrollen für sie. Die CDC produzierte im Juli ein Papier ... wo sie sagten: ‚Hier ist das virale Isolat.‘ Wissen Sie, was die gemacht haben? Sie haben einen Abstrich von einer Person gemacht. Eine Person, die in China war und Erkältungssymptome hatte. Eine Person. Und sie nahmen an, dass er [COVID-19] von Anfang an hatte. Es ist also alles voller Löcher, die ganze Sache.“

Kein lebensfähiges Virus in positiven Fällen gefunden

Die Kritik gegen PCR-Tests wird durch eine Studie vom 20. November 2020 in Nature Communications weiter verstärkt, die kein lebensfähiges Virus in PCR-positiven Fällen fand. Die Studie wertete Daten von 9.865.404 Einwohnern von Wuhan, China, aus, die sich zwischen dem 14. Mai und 1. Juni 2020 einem PCR-Test unterzogen hatten.

Insgesamt 300 wurden positiv getestet, hatten aber keine Symptome. Von den 34.424 Personen mit einer Vorgeschichte von COVID-19, wurden 107 ein zweites Mal positiv getestet. Doch als man bei diesen 407 Personen, die positiv getestet worden waren (entweder zum ersten oder zweiten Mal), Viruskulturen anlegte, wurde kein lebendes Virus gefunden.

Den Betrug aufdecken, die Misere beenden

Eine Reihe von Experten haben sich nun zu Wort gemeldet und die COVID-19-Pandemie als grausamen Schwindel bezeichnet, der durch fatal fehlerhafte Tests verewigt wurde. Abgesehen von diesen Testdaten gibt es überhaupt keine Beweise für eine tödliche Pandemie. Es gibt zwar so etwas wie COVID-19, und Menschen sind daran gestorben und sterben auch daran, aber es gibt keine überschüssigen Todesfälle aufgrund dieser Krankheit.

Mit anderen Worten: Die Gesamtsterblichkeit für 2020 ist normal. Die Pandemie hat nicht mehr Menschen getötet, als in einem beliebigen Jahr – an irgendetwas, egal was – sterben würden. Wenn wir also nicht der Meinung sind, dass wir die Welt abschalten und aufhören sollten zu leben, weil Menschen an Herzkrankheiten, Diabetes, Krebs, Grippe oder irgendetwas anderem sterben. dann gibt es keinen Grund, die Welt

abzuschalten, weil einige Menschen zufällig an COVID-19 sterben.

Die gute Nachricht ist, dass der Schwindel allmählich aufgedeckt wird, und er wird weiter aufgedeckt werden, wenn mehr Fälle vor die Gerichte der Welt gebracht werden. Fuellmich und sein ACU-Rechtsteam führen diese Klage an. Was Sie in der Zwischenzeit tun können, sollten Sie bedenken:

-Schalten Sie die Nachrichten der Mainstream-Medien ab und wenden Sie sich an unabhängige Experten – Recherchieren Sie. Lesen Sie sich die Wissenschaft durch.

-Fahren Sie fort, der Zensur zu begegnen, indem Sie Fragen stellen – Je mehr Fragen gestellt werden, desto mehr Antworten werden ans Licht kommen. Bewaffnen Sie sich mit Mortalitätsstatistiken und den Fakten über PCR-Tests, damit Sie erklären können, wie und warum diese Pandemie einfach keine Pandemie mehr ist.

-Wenn Sie ein medizinischer Fachmann sind, insbesondere wenn Sie Mitglied einer Fachgesellschaft sind, schreiben Sie einen offenen Brief an Ihre Regierung und fordern Sie sie auf, mit unabhängigen Experten zu sprechen und deren Empfehlungen zu befolgen.

-Unterschreiben Sie die Great Barrington Declaration, die ein Ende der Abriegelungen fordert.

-Treten Sie einer Gruppe bei, damit Sie Unterstützung haben. Beispiele für Gruppen, die sich gebildet haben, um gegen die Übervorteilung durch die Regierung zu kämpfen, sind:

Us for Them (<https://usforthem.co.uk/>), eine Gruppe, die sich für die Wiedereröffnung von Schulen und den Schutz der Rechte von Kindern in Großbritannien einsetzt.

Die COVID Recovery Group (CRG), gegründet von 50 konservativen britischen Abgeordneten, um gegen Schließungsbeschränkungen zu kämpfen.

The Freedom to Breathe Agency (<https://www.ftbagency.com/>), ein US-Team von Anwälten, Ärzten, Geschäftsinhabern und Eltern, die für den Schutz von Freiheit und Freiheit kämpfen

QUELLE: COVID-19 TESTING SCANDAL DEEPENS
(<HTTPS://ARTICLES.MERCOLA.COM/SITES/ARTICLES/ARCHIVE/2020/12/18/PCR-TEST-RELIABILITY.ASPX?>)

(<https://>

UNMANIPULIERTE & FREIE MEDIEN



UNCUT-NEWS (<https://uncut-news.ch/>)

Wir werden nicht von Vereinen, Verbänden, Parteien oder sonstigen Lobbygruppen unterstützt. Wir schalten keine Werbung, wir belästigen auch nicht mit lästigen Pop-ups oder nötigen unsere Besucher, den Adblocker zu deaktivieren. Unterstütze unsere Unabhängigkeit! (<https://www.paypal.com/donate?token=VbMeG0p7sQSuq7o4tqor7QOI6bf5dj7-6us63FF1FXLxQ-dW6oOXZMZihlQXYtEyxgggW5GtoorgPbGw>)

AUF EINEN BLICK

Uncut-News(<https://uncut-news.ch/>)
Meistgelesen(<https://uncut-news.ch/meistgelesen/>)
Datenschutz(<https://uncut-news.ch/datenschutz/>)
Impressum(<https://uncut-news.ch/impressum/>)

CONNECT

- E-Mail(<mailto:uncut-news@gmx.ch>)
- Telegram(https://t.me/uncut_news)
- Youtube(<https://www.youtube.com/user/uncutsnews>)
1
- Youtube(<https://www.youtube.com/user/uncutschweiz>)
2

© 2020 All rights reserved

Prof. Dr. Ulrike Kämmerer
Dipl. Biol (Virologie/Molekularbiologie)
Dr. rer. hum. biol, (Humanbiologie)
Habilitation für den Schwerpunkt Reproduktionsimmunologie

Mobil: 0176-32185418

mail: frak057@mail.uni-wuerzburg.de

Dienstlich:

Universitätsklinikum Würzburg / Frauenklinik / Forschungslabor

Josef-Schneider-Str. 4, 97080 Würzburg

Tel. 0931-201 25293

Würzburg, 23.04.2021

Molekularbiologisches Sachverständigengutachten

Zur Beweisfrage „Welche Aussagekraft zur Erkennbarkeit einer Infektion mit dem Coronavirus SARS-CoV-2 liefern der RT-qPCR-Test und die derzeit verwendeten Schnelltests“

1. Der Nukleinsäurenachweis mittels RT-qPCR-Test

Reverse-Transkriptase-quantitative Polymerase Chain Reaktion (RT-qPCR) -Tests sind als Instrument der Diagnostik für eine aktive Infektion mit SARS-CoV-2 aus zahlreichen Gründen bereits im Ansatz ungeeignet.

1.1. Begriffserklärung/Grundlagen

In einer **Polymerasekettenreaktion (PCR)** wird mithilfe des Enzyms Polymerase ein definiertes kurzes (üblicherweise 100-1000 Basen umfassendes) Stück der Desoxyribonukleinsäure (DNA) vervielfältigt. Das zu vervielfältigende DNA-Stück wird mithilfe von zwei sehr kurzen einzelsträngigen DNA-Abschnitten, den „Primern“, eingegrenzt.

Diese **Primer** bestehen üblicherweise aus einer definierten Abfolge von 18-25 Nukleinsäurebasen (die Primersequenz), welche spezifisch zu den Regionen auf der DNA passen, welche den zu vervielfältigenden Abschnitt flankieren. Um die Spezifität der PCR sicherzustellen, dürfen diese Primer explizit nur zu diesem flankierenden Bereich und zu keinem weiteren Bereich einer DNA passen. Mithilfe großer Gendatenbanken und entsprechender Software-Programme (z.B. Primer-Blast <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) können im PCR-Design diese Primer hochspezifisch entworfen werden. Bei spezialisierten Firmen werden aus den eingesendeten Primer-Sequenzen dann die Molekülketten synthetisiert und an das PCR-Labor bzw. den Hersteller von PCR-Kits ausgeliefert. Hier müssen diese Primer dann mit validen positiven und

negativen Kontrollen unter verschiedensten Versuchsbedingungen erprobt und im Einsatz optimiert werden. So wird sichergestellt, dass mit dem verwendeten Primerpaar ausschließlich die zu suchende DNA erkannt und vervielfältigt wird, aber keinerlei andere ähnliche DNA-Abschnitte.

Sind die Primer gefunden und spezifisch, kann in einem Reaktionsansatz die zu vervielfältigende DNA mit dem Primerpaar, verschiedenen Hilfschemikalien sowie dem Enzym Polymerase gemischt und die Kettenreaktion gestartet werden.

Ablauf der PCR: Diese läuft in zyklischen Wiederholungen der folgenden einzelnen Schritte ab:

1. Das Gemisch wird bei über 90°C aufgeköcht (denaturiert). Hierdurch werden die üblicherweise als Doppelstrang vorliegenden DNA-Stränge in Einzelstränge getrennt, um die spätere Anheftung der Primer zu ermöglichen.
2. Beim folgenden Abkühlen auf die sogenannte „**Annealing-Temperatur**“ können sich die Primer an ihre passenden Regionen an den aufgetrennten DNA-Strängen anheften. Die Bindung der Primer, das Annealing, erfolgt nur in einem eng begrenzten Temperaturbereich, der sog. Schmelztemperatur. Diese hängt vor allem von der Basenzusammensetzung der Primer ab und daher wird deren Sequenz im Idealfall immer so gewählt werden, dass beide Primer die gleiche Schmelztemperatur von ca. 60°C besitzen. Die angehefteten Primer bilden den Startpunkt für die Polymerase.
3. Diese Polymerase ergänzt von den Primern ausgehend die durch das Erhitzen vorliegende einzelsträngige DNA wieder zu einem passenden Doppelstrang (**Elongation**) meist bei ca. 72°C.

Durch die Lage der beiden Primer an den flankierenden Seiten des gesuchten DNA-Abschnittes sind an den Einzelsträngen die Elongationsreaktionen gegenläufig, da die Polymerase immer nur in eine Richtung arbeitet. Am Ende dieses Schrittes sind aus einer ursprünglichen doppelsträngigen DNA nun zwei identische doppelsträngige DNA-Moleküle entstanden, welche durch Aufkochen wieder getrennt, dann mithilfe der Primeranlagerung und der Polymerase in 4 identische DNA-Moleküle vervielfältigt werden usw. Jeder PCR-Zyklus aus Aufkochen-Annealing-Elongation bewirkt eine Verdopplung des gesuchten DNA-Abschnittes, so dass die Vervielfältigung im 2-er Logarithmus erfolgt und somit sehr schnell eine extrem hohe Anzahl von Kopien des ursprünglichen Ausgangsmaterials vorliegt.

So werden aus einem DNA-Strang nach 10 PCR Zyklen bereits $2^{10} = 1.024$ DNA-Kopien, bei 20 Zyklen schon über 1 Million (1.048.576) und bei 30 Zyklen über 1 Milliarde (1.073.741.824) Kopien.

Bei der **quantitativen PCR (qPCR)** Technik, wie sie derzeit weltweit hauptsächlich zum Nachweis der genomischen RNA von SARS-CoV-2 eingesetzt wird, nutzt man ein drittes kurzes DNA Stück, ähnlich der beiden Primer, welches mittig in dem gesuchten DNA-Abschnitt passend binden kann, die „**Probe**“ (**Sonde**). Anders als die beiden Primer ist diese Sonde noch mit zwei Molekülen verbunden, einem Fluoreszenzfarbstoff an einem Ende und einem weiteren Molekül (Quencher), welches das Aussenden der Fluoreszenz verhindern kann, solange sich beide gleichzeitig (also in unmittelbarer Nähe zueinander) an der Probe befinden. Beim Elongationsschritt baut die Polymerase nun diese Sonde ab. Dadurch wird der Quencher abgetrennt und das Fluoreszenzmolekül kann nun sein Farbsignal aussenden. Dieses Farbsignal wird im PCR-durchführenden Gerät (Thermozykler) erfasst und gemessen. Bei jedem PCR-Zyklus werden also entsprechend der steigenden Anzahl der Kopien immer mehr

Fluoreszenzsignale frei, die Sonde „leuchtet“ immer stärker. Und die Kurve der Farbsignalintensität steigt mit jedem Zyklus. Ab einem bestimmten Wert übersteigt die Kurve dann das Hintergrundrauschen (Schwellenwert) und wird als positiv gewertet. Die Zykluszahl, bei welcher dieses Überschreiten des Schwellenwertes erfolgt, wird als **CT-Wert** bezeichnet (CT steht dabei für „Cycle Treshold“ = Zyklusschwelle).

Je schneller die Fluoreszenz ansteigt (niedriger CT), umso mehr Ausgangskopien der gesuchten DNA waren im PCR Ansatz vorhanden. Da weder die Primer, noch das Enzym Polymerase immer 100% spezifisch arbeiten, wird in jedem PCR-Ansatz auch ein Bruchteil unspezifische DNA mitkopiert. Und je mehr Zyklen die PCR durchläuft, umso größer ist die Gefahr, dass auch diese wenigen unspezifischen Reaktionen dann doch den Schwellenwert überschreiten. Ab einem CT-Wert von 40 ist daher mit größter Wahrscheinlichkeit von einem falsch positiven Signal aufgrund unspezifischer Ausgangsmaterialien auszugehen. Eine zuverlässige PCR sollte daher nicht mehr als 30-35 Zyklen benötigen, um ein deutliches Signal „positiv“ zu generieren, im Falle aktiver Infektionen mit gesuchten Viren ist von einer ausreichenden Zykluszahl von 25-30 auszugehen (siehe auch Punkt 3.2.).

Die **Reverse Transkriptase Reaktion (RT)** wird benötigt, wenn die zu vervielfältigende Ausgangsnukleinsäure nicht als dann, sondern als Ribonukleinsäure (RNA) vorliegt, wie dies bei SARS-CoV-2 als RNA-Virus der Fall ist. Da in der PCR ausschließlich DNA vervielfältigt werden kann, muss eine RNA vorher in DNA überführt werden. Dies geschieht mithilfe des Enzyms „Reverse Transkriptase“, welche aus RNA einen komplementären Kopierstrang aus DNA erstellt, welcher dann als Ausgangsmaterial für die PCR dient.

Um die Zuverlässigkeit eines mittels RT-qPCR oder auch nur PCR erzielten Ergebnisses werten zu können, werden mithilfe von definierten Proben verdünnter korrekter Zielgene (z.B. RNA des gesuchten Virus) und sehr ähnlicher, aber nicht gesuchter Zielgene (z.B. naheverwandte Viren) die Sensitivität und die Spezifität des verwendeten Testsystems bewertet.

Die **Sensitivität** gibt hierbei an, wie empfindlich der Test auch noch kleinste Mengen des gesuchten Zielgens nachweise kann, die **Spezifität** beschreibt, wie zuverlässig der Test ausschließt, dass andere, naheverwandte Gene, auch zu einem positiven Ergebnis (**falsch positiv**) führen. Je höher die Spezifität, umso sicherer ist auszuschließen, dass durch das PCR System selber falsch positive Ergebnisse erzielt werden.

Hiervon unbenommen sind allerdings noch falsch positive Ereignisse, welche durch **Laborkontaminationen** mit Zielgenen, **Verunreinigungen von Testchemikalien** und **Kontaminationen direkt bei der Probenentnahme** entstehen können. Diese kontaminationsbedingten falsch positiven Ergebnisse können durch rigorose Qualitätssicherung und „Standard Operating Procedures“ (SOPs), dem Einsatz von speziell geschultem Fachpersonal sowie permanente externe Kontrolle in Form von Ringversuchen ausgeschlossen werden.

1.2. Grundsätzliches zur diagnostischen Aussagekraft

Der Erfinder des PCR-Tests, der im August 2019 verstorbene Nobelpreisträger Kary Mullis, hat immer wieder darauf hingewiesen, dass sein Test allein dazu geeignet ist, ein ansonsten für das menschliche Auge unsichtbares Molekül (die Desoxyribonukleinsäure, DNA) oder Fragment der DNA durch Vervielfältigung (Amplifikation) sichtbar zu machen. Nicht aber, eine

Aussage dazu zuzulassen, ob das, was sichtbar gemacht wurde, gefährlich ist oder krank macht.

Insbesondere kann ein PCR Test – auch wenn er korrekt durchgeführt wird - keinerlei Aussage dazu treffen, ob eine Person mit einem aktiven Erreger infiziert ist oder nicht. Denn der Test kann nicht unterscheiden zwischen „toter“ Materie*, wie zum Beispiel einem völlig harmlosen Genomfragment als Überbleibsel des Kampfes des körpereigenen Immunsystems gegen eine Erkältung oder eine Grippe (solche Genom-Fragmente finden sich noch viele Monate nachdem das Immunsystem das Problem „erledigt“ hat), und „lebender“ Materie, d.h. einem „frischen“, reproduktionsfähigen Virus.

* So wird die PCR beispielsweise auch in der Forensik eingesetzt, um aus Haarresten oder anderen Spurenmaterialien mittels PCR vorhandene Rest-DNA so zu vervielfältigen, dass die genetische Herkunft des/der Täter(s) erkennbar ist („Genetischer Fingerabdruck“).

Selbst wenn also bei der Durchführung der PCR inklusive aller vorbereitenden Schritte (PCR-Design und Etablierung, Probenentnahme, Aufbereitung und PCR Durchführung) alles „richtig“ gemacht wird, und der Test positiv ist, d.h.: eine Genom-Sequenz erkennt, welche ggf. auch in einem oder sogar dem konkreten „Corona“-Virus (SARS-CoV-2) existiert, bedeutet dies unter keinen Umständen, dass die Person, welche positiv getestet wurde, mit einem replizierenden SARS-CoV-2 infiziert und folglich für andere Personen ansteckend = gefährlich sein könnte.

Vielmehr müssen für die Feststellung einer aktiven Infektion mit SARS-CoV-2 weitere, und zwar konkret diagnostische Methoden wie die Isolation von vernehmungsfähigen Viren eingesetzt werden (Goldstandard).

1.3. Einflussfaktoren auf die Zuverlässigkeit des PCR Test

Tatsächlich aber hängen die Ergebnisse eines PCR-Tests von einer Reihe von Parametern ab, die zum einen erhebliche Unsicherheiten bedingen und zum anderen **gezielt** so manipuliert werden können, dass viele oder wenige (scheinbar) positive Ergebnisse erzielt werden.

1.3.1. Anzahl der unabhängigen Ziel-Gene („Targets“)

In dem ursprünglich von der WHO am 13.01.2020 publizierten Protokoll „**Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time PCR**“ (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/wuhan-virus-assay-v1991527e5122341d99287a1b17c111902.pdf>) wird die Abfolge von PCR-Nachweisen von drei unabhängigen Teilgenen des später in SARS-CoV-2 umbenannten Virus beschrieben. Die Reihenfolge bezog sich auf das E-Gen, das RdRp-Gen und dann das N-Gen. Bereits am 17.01.2020 folgte eine Änderung durch die WHO mit dem Protokoll „**Diagnostic detection of 2019-nCoV by real time PCR**“ (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2) in der das N-Gen als Nachweis entfernt wurde und somit statt der ursprünglichen 3 Targets nur noch 2 Targets empfohlen wurden. Am 02.03.2020 wurde in

einem erneut aktualisierten Testprotokoll der WHO „*Laboratory testing for coronaviruses disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases*“ (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331329/WHO-COVID-19-laboratory-2020.4-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>) darauf hingewiesen, dass „.... *In areas where COVID-19 virus is widely spread a simpler algorithm might be adopted in which for example screening by RT-PCR of a single discriminatory target is considered sufficient.....*“ (Seite 3 unten) woraufhin die Labors großflächig dazu übergingen, nur noch 1 Target zu analysieren, worauf hin viele Labors sich nur noch auf das als erstes Target eingeführte E-Gen als gültige PCR spezialisierten, wie z.B. explizit vom Labor Augsburg am 03.04. beschrieben (nur noch im Internetcache verfügbar: <https://www.oder-spree-piraten.de/wp-content/uploads/2020/05/Ge%C3%A4ndertes-Befundlayout-der-SARS-CoV2-PCR-Ergebnisse--Labor-Augsburg-MVZ-GmbH.pdf>)

Die herausragende Bedeutung der Anzahl der mittels PCR analysierten unabhängigen Zielgene ergibt sich aus folgender Rechnung:

Die im WHO-Protokoll ursprünglich für den Nachweis von SARS-CoV-2 angegebenen drei Targets E, RdRp und N-Gen wurden zügig in vielen laboreigenen und kommerziellen Testsystemen eingesetzt. Ein Ringversuch vom Institut Instant e.V. (<https://corona-ausschuss.de/wp-content/uploads/2020/07/Instand-Ringversuch-Virusgenom-Nachweis-SARS-CoV-2.pdf>) ergab für diese Gene eine mittlere Spezifität von:

Zielgen des SARS-CoV-2 Genoms	Anzahl überprüfte Tests	Spezifität nur Zellkultur (ohne Virus-RNA)	Spezifität mit verwandtem Coronavirus (HCoV 229E)	%	Mittlere Spezifität absolut	Mittlere Fehlerrate (1-abs. Spez.)
E-Gen	24	99,46%	95,17%	97,31	0,9731	0,0269
RdRp-Gen	13	97,80%	90,66 %	94,23	0,9423	0,0577
N-Gen	21	98,20%	87,95 %	93,08	0,9308	0,0692

In einer Mischpopulation von 100.000 Tests würde sich selbst bei keiner echt infizierten Person aufgrund der mittleren Fehlerrate ergeben:

Bei einem reinen E-Gentest: $100.000 \times 0,0269 =$ **2690** falsch positive

Bei E und RdRp-Test in Folge: $100.000 \times (0,0269 \times 0,0577) =$ **155** falsch positive

Bei allen drei Genen (E, RdRp, N): $100.000 \times (0,0269 \times 0,0577 \times 0,0692) =$ **10** falsch positive

Dies bedeutet, die Vorgabe der WHO, sukzessive die Anzahl der zu testenden Zielgene von SARS-CoV-2 von 3 auf 1 zu reduzieren, resultierte in einer Zunahme der falsch positiv getesteten Personen im obigen Rechenbeispiel von 10 bei 3 Genen auf fast 3000 bei nur noch dem E-Gen je 100.000 durchgeführter Tests. Würden die 100.000 durchgeführten Tests repräsentativ bei 100.000 Bürgern einer Stadt/Landkreis innerhalb von 7 Tagen durchgeführt sein, so ergibt sich alleine aus dieser Fragestellung der verwendeten Zielgene hinsichtlich der „/-Tagesinzidenz“ ein Unterschied von 10 gegenüber 155 gegenüber 2690 und davon abhängig die Schwere der ergriffenen Freiheitsbeschränkungen der Bürger.

Bewertung: Das Rechenbeispiel zeigt auch, wie durch „Spielen an den Vorgaben“ bezüglich der nachzuweisenden Targets für die Labore die täglichen Fallzahlen manipuliert werden können. Angesichts der immensen Auswirkungen auf die politischen Entscheidungen, welche von den Absolutzahlen positiver Tests und der daraus abgeleiteten „7-Tages-Inzidenz“ bestimmt werden, ist die Vorgabe der WHO (und auch des RKI) zur Reduktion der Zielgene klar dazu geeignet gewesen, die „Pandemie“ durch falsche Testvorgaben künstlich um den Faktor 300 aufzublähen.

Dies ist eine evidenzfreie Vorgehensweise, die zum einen enorme persönliche Einschränkungen der Quarantäne/Isolation, welche die fälschlich „positiv getesteten“ Personen erleiden müssen nach sich zieht, zum anderen über die „7-Tage Inzidenzzahl“ die enormen gesellschaftlichen und wirtschaftlichen Einschränkungen und Schäden willentlich in Kauf nimmt.

Wäre konsequent die korrekte Targetanzahl von drei bzw. sogar besser (wie z.B. in Thailand) bis zu 6 Genen für die PCR Analyse verwendet worden, hätte sich die Rate der positiven Tests und damit die „7-Tagesinzidenz“ fast komplett auf null reduziert.

1.3.2. Anzahl der durchgeführten Zyklen (CT-Wert)

Neben der Anzahl der nachgewiesenen Zielgene, insbesondere bei nur einem oder maximal 2 Genen stellen aber die Anzahl der Zyklen der Amplifikation in der qPCR bis zur Wertung „positiv“ und der daraus resultierende CT-Wert eine entscheidende Stellschraube dar. **Je kleiner der CT-Wert einer Probe in einer qPCR, desto höher war die Ausgangsmenge der DNA in der Probe.** Dies korreliert unter standardisierten Bedingungen mit (im Falle von Viren) der Ausgangsmenge an Viren, der sog. **Viral load**, welche im Idealfall als „Anzahl viraler Kopien“ pro ml Probe angegeben werden sollte. Diese Viral load korreliert auch im Fall von SARS-CoV-2 mit der Anzüchtbarkeit infektiöser Viren in Zellkultur wie unter Beteiligung von C. Drosten bereits im März 2020 publiziert wurde. (Abbildung 1e in Wölfel et al., <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>) Hier war eine Mindestmenge von 10^6 RNA-Kopien/ml nötig, um aus der Probe entsprechend Viren anzüchten zu können, wohingegen die RT-qPCR aus dem Ursprungsprotokoll (Corman V et al., [10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045)) bereits bei ca. 4 Kopien je Probenansatz (5µl entsprechend ca. 10^3 Kopien/ml) ein positives Ergebnis liefern kann, also bereits um den Faktor 1000 eher als in einer Probe mit tatsächlich infektiöser Virus load.

Auch **kommerzielle PCR-Testsysteme**, sogenannte Kits, weisen teilweise Nachweisgrenzen von weniger als 10 Kopien/Reaktion aus, wie z.B. Kits der Firma TIB-Molbiol (https://www.roche-as.es/lm_pdf/MDx_53-0777_96_Wuhan-R-gene_V200204_09155376001%20%282%29.pdf)

Es ist hier fachlich zu unterscheiden von einer „Besiedelung“ des Rachenraums mit einzelnen wenigen, aber keine Infektion auslösenden, Viren und einer echten „Infektion“. Letztere geht mit vermehrungsfähigen Viren einher, die dann a) zu einer symptomatischen Erkrankung und b) einer Infektiosität, d.h. der Fähigkeit, andere Personen anzustecken, einhergeht.

Diesen Aspekt hat Christian Drosten bereits 2014 in einem Interview in der Wirtschaftswoche (<https://www.wiwo.de/technologie/forschung/virologe-drosten-im-gespraech-2014-die->

[who-kann-nur-empfehlungen-aussprechen/9903228-2.html](#)) im Zusammenhang mit MERS beschrieben „*Ja, aber die Methode (Anmerkung: gemeint ist die PCR) ist so empfindlich, dass sie ein einzelnes Erbmolekül dieses Virus nachweisen kann. Wenn ein solcher Erreger zum Beispiel bei einer Krankenschwester mal eben einen Tag lang über die Nasenschleimhaut huscht (Anmerkung: das wäre die o.g. „Besiedelung“), ohne dass sie erkrankt oder sonst irgend etwas davon bemerkt, dann ist sie plötzlich ein Mers-Fall. Wo zuvor Todkranke gemeldet wurden, sind nun plötzlich milde Fälle und Menschen, die eigentlich kerngesund sind, in der Meldestatistik enthalten.*“ [...] „Denn was zunächst interessiert, sind die echten Fälle (Anmerkung: Das sind die „Infizierten“). **Ob symptomlose oder mild infizierte Krankenhausmitarbeiter wirklich Virusträger sind, halte ich für fraglich. Noch fraglicher ist, ob sie das Virus an andere weitergeben können.**“ Letzteres ist eine entscheidende Aussage auch in Bezug auf die sehr nahe mit MERS verwandten SARS-CoV-2 Viren. Aber exakt dieser Punkt der Virusweitergabe (und damit dem Treiben der Pandemie) ist die Begründung für die eingreifenden Maßnahmen wie Quarantäne/Isolationsanordnungen, die „Lockdowns“ und die sogenannten AHA-Regeln.

Weitere Belege für die Relevanz des CT-Wertes

Eine kanadische Studie von Jared Bullard/Guillaume Poliquin in *Clinical Infectious Diseases* 2020, nachzulesen unter dem Link (<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa638>) kam bereits im Mai 2020 zu dem Ergebnis, dass oberhalb eines CT-Wertes von 24 kein reproduktionsfähiges Virus mehr gefunden wurde – dies bedeutet: Der Versuch, aus Abstrichproben, die erst bei einem höheren CT-Wert zu einem positiven Test führten, anschließend vermehrungsfähige Viren anzuzüchten, scheiterte. Oberhalb eines CT-Wertes von 24 ist laut dieser Studie die Menge nachweisbaren viralen Erbguts also so gering, dass sich der positive Test jedenfalls nicht mehr im Sinne einer aktiven Infektion interpretieren ließ. Eine große Studie von Jaffar et al. (Doi [10.1093/cid/ciaa1491](https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1491)) setzte die Grenze zur Anzüchtbarkeit von SARS-CoV-2 aus Patientenprobenmaterial bei einem CT-Wert von 30 .

In einer Studie zum Vergleich Antigentest/RT-qPCR und Virusanzucht aus dem CDC (<https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciab303/6224406>) wurde eine erfolgreiche Virusanzucht für einen CT-Bereich von 17,4-28,8) beschrieben, wobei nur unter eine CT von 25 alle Proben von symptomatischen Personen stammten und mit einer erfolgreichen Virusanzucht einhergingen und nur 18,2% wenn der CT zwischen 25 und 29 lag. Im Original: „*Virus was isolated from specimens with Ct values ranging from 17.4-29.8; virus was isolated from all specimens with a Ct value <25 and from 18.5% (5/27) of specimens with a Ct value ≥25.* (Seite 9 mittig). Unabhängig von dieser Überprüfung mithilfe der Virusanzucht galten hier jedoch alle Proben, welche in zwei Target-Sequenzen aus dem „N-Gen“ mit einem Ct bis 40 positiv wurden als „echt positiv“

In seinem NDR-Podcast vom 16.02.2021 benannte C. Drosten explizit, dass eine Erhöhung des CT von 25-27 über die Grenze von 28 hinweg bedeutet, dass Personen von denen diese Abstriche mit dem höheren CT gewonnen wurden, nicht mehr infektiös sind. „*und auch hier ist wieder eine Ct-Wertverschiebung von 25 auf 27 ungefähr, 27, 28 zu sehen. Und das ist ein Bereich, da ist nach unserer Einschätzung wirklich die Infektiosität zu Ende. Wenn man so eine Patientenprobe sieht und man würde fragen, ist der Patient noch infektiös, da würde ich sagen:*

Nein, das ist jetzt langsam nicht mehr ein infektiöser Bereich. Das kann man korrelieren“ Seite 4 (rechte Spalte oben in: <https://www.ndr.de/nachrichten/info/coronaskript270.pdf>)

Mit diesen CT-Angaben bezieht sich C. Drosten vermutlich hauptsächlich auf eine Studie zur Impfeffektivität in Israel, welche mittels RT-qPCR überprüft wurde.

Auf diese Studie, welche in einer Preprint-Veröffentlichung verfügbar ist („Decreased SARS-CoV-2 viral load following vaccination“ (<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.02.06.21251283v1>)) wird auch in einem Schreiben vom RKI (AZ: ID3176 vom 31.03.2021) an das Bundesministerium für Gesundheit hingewiesen. In dieser Studie wird anhand von PCR-Tests nach einer Impfung (mit BNT162b2) aufgezeigt, dass bei geimpften Probanden, welche ab Tag 12 nach der ersten Impfung in der PCR für SARS-CoV-2 positiv werden, der CT für die drei getesteten Gene (E, N, RdRp mittels des Seegene Allplex Testkits, welcher laut Instant Ringversuch 340 eine Spezifität von 96-98,4% aufweist) von einem **mittleren CT von 25 auf einen mittleren CT von 27 ansteigt**.

Im Vergleich mit einer ebenfalls SARS-CoV-2 PCR positiven ungeimpften Kohorte wird in dieser Studie ein Impferfolg anhand einer CT-Abnahme von 1,64-2,33 festgemacht. Im Original: „*Finally, applied on all infections (post-vaccination and unvaccinated, n=5,794), a multivariate linear regression model accounting for age, sex and vaccination quantify Ct regression coefficients ranging from 1.64 (N gene) to 2.33 (RdRp) for vaccination after 12 days or longer prior to infection sampling*“, was rechnerisch mit einer 4-fachen Reduzierung der Viruslast in Geimpften versus Ungeimpften gleichgesetzt wird. Im Original: „*As a difference of 1 Ct unit is equivalent to a factor of about 1.94 in viral particles per sample, these Ct differences represent a viral load ratio ranging from 2.96 to 4.68.*“

Auch eine Studie aus Südkorea erwähnt einen CT von ≤ 25 als Obergrenze der klinisch relevant „positiven“ und zieht diesen Wert zum Vergleich mit der Güte von Antigentests heran. Originalzitat: „*[...] based on a clinically significant Ct value of ≤ 25 (...)*“ (S. 3 in <https://jkms.org/DOLx.php?id=10.3346/jkms.2021.36.e101>)

Einhellige wissenschaftliche Meinung (u.a. auch von Dr. Fauci vom US CDC, aber auch einer Reihe von in der New York Times im August 2020 zitierten Wissenschaftlern, <https://www.nytimes.com/2020/08/29/health/coronavirus-testing.html>) ist, dass alle „positiven“-Resultate, die erst ab einem Zyklus von 35 erkannt werden, keinerlei wissenschaftliche (d.h.: keine evidenzbasierte) Grundlage haben. Der mit Hilfe der WHO weltweit propagierte RT-qPCR Test zum Nachweis von SARS-CoV-2 hingegen war (und ihm folgend auch alle anderen auf ihm als Blaupause basierenden Tests) auf 45 Zyklen eingestellt ohne einen CT-Wert für „positiv“ zu definieren.

Ebenfalls bereits im Mai 2020 wurde vom National Center for Infectious Disease in Singapur ein Positionspapier herausgegeben (<https://www.ncid.sg/Documents/Period%20of%20Infectivity%20Position%20Statementv2.pdf>), welches darauf hinweist, dass

1. Es wichtig ist, dass der Nachweis viraler RNA durch die PCR weder einer Infektiosität, noch einem vermehrungsfähigem Virus entspricht („*it is important to note that viral RNA detection by PCR does not equate to infectiousness or viable virus*“)

2. Der Grenzwert (cycle threshold value CT) der PCR weist als Surrogatmarker für den Gehalt an viraler RNA bereits ab einem CT von 30 zwar noch virale RNA nach, nicht mehr jedoch die Anwesenheit von vermehrungsfähigen Viren und die betroffenen Personen sind nicht infektiös.

Originaltextauszug: *“6. A surrogate marker of ‘viral load’ with PCR is the cycle threshold value (Ct). A low Ct value indicates a high viral RNA amount, and vice versa. As noted above, **detection of viral RNA does not necessarily mean the presence of infectious or viable virus.** In a local study from a multicenter cohort of 73 COVID-19 patients, when the Ct value was 30 or higher (i.e. when viral load is low), no viable virus (based on being able to culture the virus) has been found.”*

Auch das RKI erklärt auf seiner Homepage zum Stand 11.08.2020

(https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html#doc13490982bodyText4) *“Erste Ergebnisse aus der Diagnostik am RKI zeigen, dass der Verlust der Anzüchtbarkeit in Zellkultur mit einer per real-time PCR (Anmerkung: ist die RT-qPCR) ermittelten RNA Menge von <250 Kopien/5 µL RNA einherging. Diese RNA-Konzentration entsprach im verwendeten Testsystem einem Ct-Wert >30.”*

Eine aktuelle Studie aus Südkorea (<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2027040>) legt die Grenze zur Virusanzüchtbarkeit auf einen CT-Wert von 28,4.

Und in einer ebenfalls aktuellen Studie aus Frankfurt (<https://www.mdpi.com/2077-0383/10/2/328>) zeigte sich, dass von 64 RT-qPCR positiven Patientenproben (ein Gen getestet) nur aus 33 (=52%) eine Virusanzucht in Zellkultur gelang. Diese infektiösen Proben wurden bereits bis zu einem mittleren CT-Wert von 26 positiv (Ergänzende Abbildung 1) wohingegen aus den Proben mit einem höheren CT keine Virusanzucht mehr gelang.

Im Ringversuch Instant e.V. (http://www.finddx.org/covid-19/pipeline/?section=molecular-assays#diag_tab.), siehe auch nächster Punkt, zeigt sich die enorme Bandbreite der CT-Werte selbst bei hochstandardisierten Proben zwischen den verschiedenen Labors und auch bezüglich der unterschiedlichen Zielgene. So schwankt hier z.B. der CT für die gleiche definierte verdünnten Probe von SARS-CoV-2 (Probennummer 340061) für die WHO-empfohlenen Gene zwischen 15-40 (E-Gen), 20-40,7 (N-Gen) und 19,5-42,8 (RdRp-Gen). Dies zeigt eindrucksvoll einen extremen Mangel an Teststandardisierung innerhalb der beteiligten (und zertifizierten) Labors.

Vor diesem Hintergrund ist es befremdlich, wenn die RT-qPCR nach wie vor vom RKI als „Gold-Standard“ angesehen wird, ohne die exakten Validierungen und externen Zertifizierungsbedingungen zu definieren (und ohne dass diese von den Behörden offensichtlich vollumfänglich überwacht werden).

Bewertung:

Generell kann eine RT-qPCR keine intakten, vermehrungsfähigen (infektiösen) Viren nachweisen, nicht einmal das komplette intakte Virusgenom, sondern ausschließlich

Nukleinsäure des gesuchten Abschnitts. Es ist generell möglich, bei gut eingestellten und korrekt durchgeführten PCR-Tests **durch Validierung mit einer parallel durchgeführten Virusanzucht in Zellkultur** einen Grenzwert (CT) zu definieren, ab dem ein positives PCR-Signal nicht mehr mit vernehmungsfähigen Viren korreliert. Diese ist in der Überwachung von Blutprodukten seit Jahren gut geübte Routine.

Diese stringente Validierung erlaubt dann - solange das Testsystem NICHT verändert wird - als Surrogatmarker eine Abschätzung der Viruslast und damit der möglichen Infektiosität der getesteten Probe, nie allerdings jedoch den definitiven Nachweis. Sobald eine Komponente am PCR-Testsystem (seien es Chemikalien, Plastikwaren, Enzyme, Protokollabläufe oder Maschinen) in einem der angewendeten Schritte verändert wird, muss zwingend das System wieder neu kalibriert werden.

Aus allen bisher publizierten Informationen (siehe oben) kann davon ausgegangen werden, dass jeder CT-Wert über 35 nicht mehr mit einer Anzuchtbarkeit infektiöser Viren einhergeht und damit der absolute Grenzwert für die Entscheidung „positiv“ ist, auch unabhängig vom verwendeten Testsystem. Der CT-Bereich 25-35 ist testabhängig möglicherweise noch valide als „positiv im Sinne einer Infektiosität“ zu bewerten, wenn er, wie beschrieben, durch adäquate Validierung im durchführenden Labor mit einer Virusanzucht verglichen wurde.

CT ≤ 25 : positiv
CT 26-35 : nur positiv, wenn mit Virusanzucht abgeglichen
CT > 35 : negativ

Die strenge Bewertung des CT-Wertes spielt vor allem eine Rolle, wenn die Targetanzahl eins ist, gilt aber generell für jedes einzelne Target.

Für sich genommen, ohne Angaben über den Abgleich mit der bestimmten Anzahl der Virusgenome (Viral load) und der Korrelation mit einer Anzuchtbarkeit entsprechender Virusmengen ist der CT Wert jedoch als Bewertungskriterium eines positiven PCR-Nachweises wertlos.

1.3.3. Adäquate Kontrollen

Um die **Sensitivität** und **Spezifität** einer RT-qPCR korrekt einschätzen zu können, müssen bei jedem Reaktionsdurchlauf adäquate Proben mitgeführt werden. Dies beginnt bei der Teststelle mit „Leerabstrichen“ um Kontaminationen am Probengewinnungsort sicher auszuschließen, geht weiter über Extraktionskontrollen, um die korrekte Isolation vermehrbare RNA mit allen anschließenden Bearbeitungsschritten sicherzustellen, d.h. eine künstlich hergestellte definierte RNA welche in allen Arbeitsschritten der Probenaufbereitung bis hin zur PCR mitgeführt und bearbeitet wird und für die dann mithilfe passender Primer auch die PCR durchgeführt wird. Hiermit kann ausgeschlossen werden, dass im Rahmen der Probenbearbeitung hemmende Substanzen oder Fehler die Amplifikation von RNA verhindern.

Ferner muss in jeder korrekten Testserie eine Reihe von externen (d.h. parallel wie Patientenproben mitgeführten) Negativkontrollen sowie eine Positivkontrolle, die im Idealfall aus einem inaktivierten definierten SARS-CoV-2 Virusstamm besteht. Dies wäre eine ureigene

Aufgabe des RKI (unter Mithilfe anderer, geeigneter öffentlicher Einrichtungen wie die Bernhard Nocht-Institut oder dem Friedrich-Löffler Institut), in den dort vorhandenen Labormöglichkeiten (der Sicherheitsstufe 4) eine ausreichende Anzahl der SARS-CoV-2 Viren aus Patientenproben zu isolieren, daraus definierte Stämme als Kontrollen zu kultivieren, diese zu inaktivieren und in definierten Viruszahlen über die lokalen Aufsichtsbehörden als Kontrollen an die testenden Labors abzugeben. Nachdem diese wichtige Dienstleistung jedoch selbst nach über einem Jahr der „Pandemie“ nach wie vor nicht angeboten wird, besteht die Positivkontrolle meist aber aus einer synthetischen RNA, welche nur die Zielgene des Testsystems kodiert. Über diese Positivkontrolle kann auch die untere Nachweisgrenze der PCR bestimmt werden. Diese wird von einigen kommerziellen Kits mit 20 oder weniger viralen Genomen je Probe angegeben und weist damit (siehe Punkt 1.3.2.) bereits eine Virusmenge im Abstrich nach, welche um den Faktor 10^5 unter der infektiösen Dosis liegt, bedeutet: keinerlei diagnostischen/prognostischen Wert hat. Eine Übersicht über die aktuell eingesetzten kommerziellen Kits mit ihren Leitungsdaten findet sich unter [http://www.finddx.org/covid-19/pipeline/?section=molecular-assays#diag tab](http://www.finddx.org/covid-19/pipeline/?section=molecular-assays#diag%20tab).

Ringversuche:

Zu den korrekt durchgeführten Kontrollen gehört auch die Teilnahme der Test durchführenden Labors an sogenannten „**Ringversuchen**“ (siehe auch 1.3.1.). Bei diesen wird von einem externen Anbieter ein anonymisiertes Panel an Testproben zur Verfügung gestellt. Diese enthalten im Falle des Virusnachweises negative Proben und Proben mit nahe verwandten Viren (inaktiviert) zur Überprüfung der Spezifität (diese Proben dürfen kein positives Signal ergeben) und Positivproben mit verschiedenen Verdünnungen des gesuchten Virus (inaktiviert), um die Sensitivität (ab welcher Virenanzahl wird die PCR positiv, mit welchem CT-Wert) zu ermitteln.

Im Fall von SARS-CoV-2 erfolgte der erste Ringversuch „Virusgenom-Nachweis - SARS-CoV-2 (340)“ durch den Verein „INSTANT e.V.“ bereit im April 2020. An diesem Ringversuch nahmen laut Bericht 488 Labors teil, von denen 463 Ergebnisse zurückmeldeten. Die Ergebnisse können im publizierten Kommentar (Zeichhardt M: *Kommentar zum Extra Ringversuch Gruppe 340 Virusgenom-Nachweis SARS-CoV-2*“, verfügbar unter: <https://corona-ausschuss.de/wp-content/uploads/2020/07/Instand-Ringversuch-Virusgenom-Nachweis-SARS-CoV-2.pdf>) nachgelesen werden und zeigen zwei Abweichungen von dem üblichen Ringversuchsprozedere, welche bereits hier auf Laborprobleme mit der RT-qPCR zum Nachweise von SARS-CoV-2 hinwiesen: So heißt es auf Seite 4 der Publikation: „*Wichtige Mitteilung zur Auswertung: Nur 4 der 7 Proben, die im diesem Extra-Ringversuch untersucht wurden, werden für die Erlangung eines Zertifikats über die erfolgreiche Teilnahme berücksichtigt*“. In der Fußnote auf Seite 10 des Kommentars heißt es: „*In der Zwischenauswertung vom 17. April 2020 wurden allen Teilnehmern des Extra INSTAND Ringversuchs (340) Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2 April 2020 die Probeneigenschaften der Proben 340059, 340060 und 340064 vorzeitig mitgeteilt. Die Ergebnisse dieser 3 Proben bleiben für die Erteilung eines Zertifikats unberücksichtigt [...]*“ Der Grund für diesen Ausschluss bestimmter Proben wird auf Seite 4 des Kommentars dargelegt: „*Während der Extra-Ringversuch noch lief, erhielt INSTAND e.V. aus dem In- und Ausland dringliche Anfragen,*

noch vor Ende der verlängerten Abgabefrist, also vor dem 28. April 2020, die Eigenschaften der zu untersuchenden Proben aufzudecken, damit Laboratorien bei etwaigen Fehlmessungen ihre Testmethode kurzfristig verbessern können.“ (Seite 4 oben im Bericht von INSTANT e.V.)

Dieses Vorgehen ist sehr ungewöhnlich für einen echten Ringversuch und stellt damit kein unabhängiges externes Überprüfungsverfahren der beteiligten Labore mehr dar.

Trotz der schon aufgedeckten Proben und des reduzierten Testumfangs kam es bei einer Vielzahl von Laboren zu Verwechslungen von Proben – so heißt es auf Seite 18 des Kommentars: *„Bei Probe 340064 (SARS-CoV-2 positiv 1 : 100 000 verdünnt) beruht die reduzierte Erfolgsquote von nur 93,2 % im Wesentlichen auf falschen Ergebniszuordnungen (Verwechslungen) bei Probe 340064 und Probe 340065 (negativ für SARS-CoV-2 und positiv für HCoV 229E). Die Verwechslungen bei den Proben 340064 und 340065 betreffen 24 Labore mit insgesamt 59 Ergebnissen je Probe. Siehe dazu auch Abschnitt 2.4.2.1. [...]“*. Eine Vielzahl von Laboren hat also fälschlich die Probe 340064 (leicht verdünntes SARS-CoV-2) mit der Probe 340065 (negativ für SARS-CoV-2 und positiv für das naheverwandte Virus HCoV 229E) verwechselt.

Abgesehen von der erschreckenden Tatsache, dass offensichtlich selbst unter hoch standardisierten Abläufen in einem Ringversuch eine erhebliche Anzahl von Proben vertauscht wurden (was die Frage nach der entsprechenden Quote an Probenvertauschungen und damit falsch zugeordneten Abstrichproben unter Massentestbedingungen aufwirft), fällt auf, dass alle gemeldeten Verwechslungen nur diese beiden Proben betrafen, nicht jedoch die ebenfalls bewertete Proben mit der Endziffer 61 (sehr hoch verdünntes SARS-CoV-2) und 62 (negativ). Die detaillierten Ergebnisse eines zweiten Ringversuchs aus Juni/Juli 2020 (<https://www.instand-ev.de/System/rv-files/Zusammenfassung%20der%20Probeneigenschaften%20und%20Sollwerte%20Virologie%20340%20Juni%20Juli%202020%2020200911a.pdf>) sind nach wie vor nicht öffentlich einsehbar.

1.3.4. Ausschluss von **Kontaminationen** von Reagenzien und „**Problemen im Handlungsablauf**“

Das beste PCR-Design kann dennoch zu falsch positiven Ergebnissen führen, wenn entweder die zugrundeliegenden Reagenzien / Kits mit positiven Proben kontaminiert sind, oder, sehr viel wahrscheinlicher, **Kontaminationen im Laborablauf** entstehen. Da die PCR eine extrem empfindliche Methode ist (exponentieller Reaktionsverlauf), die wenige Moleküle einer DNA nachweisen kann, ist in der klinischen Diagnostik die Laborkontamination durch PCR Endprodukte ein Hauptproblem (beschrieben z.B. bereits 2004 in Aslanuadeh J et al., <http://www.annclinlabsci.org/content/34/4/389.full.pdf+html>: *„A typical PCR generates as many as 10^9 copies of target sequence and if aerosolized, even the smallest aerosol will contain as many as 10^6 amplification products [6]. If uncontrolled, within a relatively short time the buildup of aerosolized amplification products will contaminate laboratory reagents, equipment, and ventilation systems [6].*) Diese extreme Kontaminationsgefahr setzt voraus, dass in den diagnostischen Laboren, welche mit der PCR arbeiten, höchste Sorgfalt bei der Testung waltet - sehr fachkundiges Personal, kontaminationssichere Umgebung, permanente unabhängige Kontrolle.

Bereits im oben schon erwähnten Ringversuch 340 im April tauchte ein Problem mit falsch positiven Ergebnissen auf, welches wie folgt kommentiert wurde (Seite 20 unten): „Zusätzlich weisen in einigen Fällen die Untersuchungen mit den SARS-CoV-2-negativen Kontrollproben 340060, 340062 und 340065 auf Spezifitätsprobleme hin, die unabhängig von Vertauschungen der Proben 340064 und 340065 sind. Es ist abzuklären, ob diese **falsch positiven Ergebnisse** auf ein **Spezifitätsproblem der angewendeten Teste oder auf eine Verschleppung von SARS-CoV-2 bei der Testdurchführung bzw. auf Verwechslungen mit anderen Proben** in diesem Ringversuch in den betreffenden Laboren zurückzuführen sind.“ (Seite 21 unten in <https://www.instand-ev.de/System/rv-files/340%20DE%20SARS-CoV-2%20Genom%20April%202020%2020200502j.pdf>). Zur Verwechslung in diesem Ringversuch siehe Details Punkt 3.3. Absatzende.

Wenn man vor diesem Hintergrund ferner sieht, wie z.B. nach einem BBC-Bericht in großen Testlaboren in England offen und extrem kontaminationsanfällig mit ungeschultem Personal gearbeitet wird (<https://www.youtube.com/watch?v=Uk1VK1reNtE>), verwundert es nicht, wenn sich auch in Deutschland (wo es solche Beiträge bisher nicht gefilmt gibt) gelegentlich Meldungen über „falsch positive Fälle“ durch Laborkontaminationen in den Medien finden (z.B. MVZ Augsburg - Link am Ende des Abschnitts). Selbst unter kontrollierten Laborbedingungen sind Kontaminationen durch die Arbeitsschritte der PCR bei so einer hochempfindlichen Methode nicht sicher auszuschließen. So wurde auf die Problematik von falsch positiven PCR-Ergebnissen in der SARS-CoV-2 Diagnostik aufgrund von Laborabläufen und bereits in der ersten Publikation der RT-qPCR (Corman et al., DOI: [10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045)) hingewiesen: „In four individual test reactions, weak initial reactivity was seen but they were negative upon retesting with the same assay“ [.....] „..... most probably to handling issues....“

Selbst wenn der Handlungsablauf im Labor optimal und extrem überwacht funktioniert, um laborbedingte Kontaminationen stark zu minimieren, kann hier eine unerwartete Quelle für falsch positive Ergebnisse in der **Kontamination der eingesetzten Materialien/Chemikalien ab Hersteller entstehen**. So können bereits die zur Probenentnahme verwendeten Abstrich Materialien ab Werk kontaminiert sein - wie z.B. beim Falle des „Phantoms von Heilbronn“, in welchem die Wattestäbchen zur Abnahme der DNA-Spuren an den Tatorten mit der DNA einer Verpackungskraft des Herstellerwerkes verunreinigt waren und so jahrelang die Forensik mit falschen Spuren behinderte (<https://www.faz.net/aktuell/gesellschaft/kriminalitaet/dna-ermittlungspanne-das-phantom-von-heilbronn-ist-widerlegt-1925411.html>).

Auch im Falle der SARS-CoV-2 Diagnostik wurde bereits im Juni 2020 ein Kontaminationsproblem aufgrund ab Werk mit Positivkontrollen versetzter PCR Primer publiziert (Wernike et al., DOI: [10.1111/tbed.13684](https://doi.org/10.1111/tbed.13684)). Hier war aufgefallen, dass selbst reine Wasserproben mit mehreren unabhängigen Primerchargen einen eindeutig positiven SARS-CoV-2 Nachweis in der RT-qPCR ergaben: „However, there were also primers/probe sets that displayed very low-level contaminations, which were detected only during thorough internal validation.“

Auch einige in der Tagespresse im Sommer 2020 berichteten falsch-positiven Ergebnisse der SARS-CoV-2 RT-qPCR Testung wurden Materialproblemen zugeordnet (z.B. <https://www.br.de/nachrichten/bayern/probleme-in-augsburger-labor-bringen-falsche-testergebnisse,SEh5Qq4>)

Bewertung:

Selbst bei idealem RT-qPCR-Design und guter Laborpraxis mit adäquater Validierung können Probleme im täglichen Handlungsablauf sowie von außen über bereits ab Werk kontaminierten Proben die Ergebnisqualität der RT-qPCR wesentlich beeinflussen und zu falsch positiven Ergebnissen führen.

1.3.5. Kommerzielle PCR Testkits: Zulassung für Diagnostik?

Bereits sehr früh wurden kommerzielle PCR-Testsysteme, die „PCR-Kits“ in den Routinelabors zur Diagnostik eingesetzt, obwohl ein Großteil davon nur für „RUO“ (research use only“) deklariert war.

Besonders herauszustellen ist hierbei der erste, und daher prägnanteste Testhersteller, die Berliner Fa. TIB Molbiol, deren Firmeninhaber (Olfert Landt) bereits auf dem WHO-Protokollempfehlungen neben Christian Drosten als Autor aufgeführt war. Die Kits, welche entsprechend auf den WHO-Empfehlungen beruhen, werden über die Fa. Roche auf deren Großautomaten „Cobas“ eingesetzt und dürften daher den Großteil der zur Routinediagnostik eingesetzten Kits in Deutschland ausmachen.

Genauere Zahlen sind nicht eruiert, jedoch hat TIB Molbiol davon im Jahr 2020 nach eigenen Angaben bereits weltweit über 60 Millionen Tests ausgeliefert (<https://www.tib-molbiol.de/de/covid-19>), obwohl diese nach wie vor als „**Not tested for use in diagnostic procedures**“ (z.B. Kopfzeile in https://www.roche-as.es/lm_pdf/MDx_53-0777_96_Wuhan-R-gene_V200204_09155376001%20%282%29.pdf) deklariert sind. Die entsprechenden Beipackzettel mit den Protokollangaben und Kitbeschreibungen der Firma TIB Molbiol wurden erstaunlicherweise nach Metaangaben der ursprünglich verfügbaren PDFs (können elektronisch zur Verfügung gestellt werden) bereits am **15.01.2020** (!!!) komplett mit ROCHE SAP-Nummer erstellt sind nach wie vor unverändert verfügbar (wenn auch mit Metadatenanalyse 06.02.2020) parallel zu anderen Testkits, welche inzwischen eine Zulassung für in vitro Diagnostik haben.

1.4. Zusammenhang positiver Nukleinsäure-Nachweis in der RT-qPCR und Infektiosität

Nur tatsächlich Infizierte können das Virus weitergeben und bergen das Risiko einer Erkrankung und sind damit für die Bestimmung des Verlaufs einer Infektionsrate und Erkrankungswelle heranzuziehen

„Der PCR-Nachweis ist die Standarduntersuchung zur Diagnose von Virusinfektionen wie SARS-CoV-2. Der Test weist einzelne Erregergene, jedoch keine intakten Erreger nach.“ Und: „Es besteht die Möglichkeit, dass der Test über die Dauer der Infektion hinaus positiv ausfällt, weil noch „Virusrümpfer“ in Nase oder Rachen vorhanden sind. Ein sicherer Nachweis der Infektiosität ist nur mit aufwendigen Tests möglich, bei denen im Labor untersucht wird, ob das Material aus den Abstrichen lebende Zellen abtöten kann.“ Dies schrieb das Dt. Ärzteblatt am 01.02.2021 (<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/120745>).

„Der PCR-Test detektiert Genabschnitte von SARS-CoV-2; er sagt nichts darüber aus, ob es sich um infektiöse Viren oder um Virusreste nach durchgemachter Infektion handelt. Hierzu wäre eine Erregeranzucht erforderlich.“ War in einer Veröffentlichung des Leiters des Frankfurter Gesundheitsamtes aus dem August 2020 zu lesen ([https://www.laekh.de/fileadmin/user_upload/Heftarchiv/Einzelartikel/2020/10_2020/Die Covid-19-Pandemie in Frankfurt am Main.pdf](https://www.laekh.de/fileadmin/user_upload/Heftarchiv/Einzelartikel/2020/10_2020/Die_Covid-19-Pandemie_in_Frankfurt_am_Main.pdf)).

In einer CDC-Veröffentlichung vom 13.07.20 unter der Überschrift „*CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel For Emergency Use Only Instructions for Use*“, (<https://www.fda.gov/media/134922/download>) findet sich auf S. 38 unter der (noch auf S. 37 zu findenden) Überschrift „Limitations“ :

“• Detection of viral RNA may not indicate the presence of infectious virus or that 2019-nCoV is the causative agent for clinical symptoms.”

Die Übersetzung lautet: „Der Nachweis von viraler RNA weist möglicherweise nicht auf das Vorhandensein eines infektiösen Virus hin oder darauf, dass 2019-nCoV der ursächliche Erreger für klinische Symptome ist.“

Dass ein reiner mRNA-Nachweis von SARS-CoV-2 nicht zwingend mit einer Erkrankung korrelieren muss und nicht als alleiniges Kriterium für die Beurteilung der Erkrankung herangezogen werden darf, sondern nur ein Hilfsmittel zur Bestätigung einer klinischen Diagnose darstellt, wird auch eindeutig in der WHO Information „*Notice for IVD Users 2020/05, Nucleic acid testing (NAT) technologies that use polymerase chain reaction (PCR) for detection of SARS-CoV-2*“ vom 13.01.2021 (veröffentlicht am 20.01.2021 unter <https://www.who.int/news/item/20-01-2021-who-information-notice-for-ivd-users-2020-05>) beschrieben: „Wenn die Testergebnisse **nicht mit dem klinischen Bild** übereinstimmen, sollte eine neue Probe entnommen und mit der gleichen oder einer anderen NAT-Technologie erneut getestet werden.“ - **im Original:** „Where test results do not correspond with the clinical presentation, a new specimen should be taken and retested using the same or different NAT technology.”

Ferner: „Die meisten **PCR-Assays sind als Hilfsmittel für die Diagnose** indiziert, daher müssen Gesundheitsdienstleister jedes Ergebnis in Kombination mit dem Zeitpunkt der Probenentnahme, dem Probentyp, den Assay-Spezifika, **klinischen Beobachtungen, der Patientenanamnese**, dem bestätigten Status aller Kontakte und epidemiologischen Informationen berücksichtigen.“ Im Original: “Most PCR assays are indicated as an aid for diagnosis, therefore, health care providers must consider any result in combination with timing of sampling, specimen type, assay specifics, clinical observations, patient history, confirmed status of any contacts, and epidemiological information”

Auch in einer aktuellen Publikation in Lancet ([https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)00425-6/fulltext#%20](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00425-6/fulltext#%20)) bezeichnen die Autoren den RT-qPCR Test wie folgt: “Unserer Ansicht nach ist der aktuelle PCR-Test daher nicht der geeignete Goldstandard für die Bewertung eines SARS-CoV-2-Tests für die öffentliche Gesundheit“ Im Original: „In our view, current PCR testing is therefore not the appropriate gold standard for evaluating a SARS-CoV-2 public health test“, da ihrer Meinung nach die PCR auch dann noch positiv anschlägt, wenn die Getesteten schon

nicht mehr positiv sind, da die RNA über Wochen und Monate auch nach erfolgreicher Bekämpfung durch das Immunsystem weiter im Körper persistieren kann, ohne dass die Person noch ansteckend ist. *„Sobald die Replikation von SARS-CoV-2 durch das Immunsystem unter Kontrolle gebracht wurde, sinken die mittels PCR in den Atemwegssekreten nachweisbaren RNA-Konzentrationen auf sehr niedrige Werte, bei denen es sehr viel unwahrscheinlicher ist, dass die Betroffenen andere infizieren. Die verbleibenden RNA-Kopien können Wochen, gelegentlich auch Monate, benötigen, bis sie verschwunden sind, während dieser Zeit bleibt die PCR positiv“* im Original: *„Once SARS-CoV-2 replication has been controlled by the immune system, RNA levels detectable by PCR on respiratory secretions fall to very low levels when individuals are much less likely to infect others. The remaining RNA copies can take weeks, or occasionally months, to clear, during which time PCR remains positive“*

1.5. Fazit: Aussagekraft der RT-qPCR Tests zur Erkennbarkeit einer Infektion mit dem Coronavirus SARS-CoV-2

1. Vor dem Hintergrund der im Punkt 1.3 dargelegten Probleme ist die RT-qPCR kein geeignetes zuverlässiges (und zugelassenes) Diagnostikum zum Nachweis von infektiösen (replikationsfähigen) SARS-CoV-2 Viren.
2. Ferner ist das reine RT-qPCR Testergebnis nur ein Laborwert, der angesichts des unter dem Punkt 1.4. dargelegten Aspekts keine Aussage über das Vorhandensein infektiöser Viren erlaubt und nur in Zusammenschau mit einer klinischen Symptomdiagnose (erhoben durch Gesundheitsdienstleister, in Deutschland Mediziner) überhaupt eingesetzt werden darf.

Zusammenfassung: Zur Testung asymptomatischer Menschen anhand eines Nasen-Rachenabstrichs, wie er massenweise unkritisch und überwiegend von nicht-medizinischen Personal OHNE (hierbei entscheidend: entgegen der WHO-Forderung!) Anamnese- und Symptomerhebung bei den Getesteten erfolgt, ist die eingesetzte RT-qPCR nicht tauglich, eine Infektion mit SARS-CoV-2 zu erkennen.

2. Der Antigennachweis mittels Schnelltest

2.1. Begriffserklärung/Grundlagen zum Schnelltest

Die aktuell zur Diagnostik von SARS-CoV-2 eingesetzten „Schnelltests“ beruhen auf dem Prinzip eines Antigentests nach dem „**lateral flow**“ Testverfahren. Hiermit wird ein Eiweißbestandteil (Protein) des Virus nachgewiesen.

Als **Antigen** bezeichnet man eine dreidimensionale Struktur von Eiweißen und anderen organischen Materialien, welche von Antikörpern (Immunglobulinen) erkannt und gebunden werden kann.

Im Falle von **Virusantigenen** handelt es sich üblicherweise um einzelne Eiweißbestandteile (Proteine) aus der Virusstruktur. Dies können entweder komplette Strukturproteine wie das auf der Oberfläche befindliche „Spike“ Protein (S-Protein, das sind die „gestielten Knöpfchen“ in den Virus-Zeichnungen) oder das Hüllprotein („envelope“ - E-Protein) oder jenes Protein sein, aus dem die Kernhülle aufgebaut ist (Nucleocapsid = N-Protein). Auch Bruchstücke dieser kompletten Strukturproteine reichen häufig aus um von Antikörpern gebunden zu werden. Dies sind die sogenannten **Epitope**, welche auch am intakten Strukturprotein die eigentliche Antikörperbindestelle darstellen. Jedes Strukturprotein hat üblicherweise eine Vielzahl von Epitopen, so dass unterschiedliche Antikörper gleichzeitig an unterschiedliche Epitope des gleichen Proteins binden können.

Bei SARS-CoV-2 sind die wichtigsten Antigene (die oben genannten, S-, E- und N-Proteine) diejenigen, welche bei einer Infektion mit dem Virus im Körper eine Immunreaktion auslösen. In Folge dessen bildet der Körper Antikörper, welche diese Antigene spezifisch erkennen, dann daran binden (**Antigen-Antikörper-Reaktion**) um die Viren zu neutralisieren und für Immunzellen zerstörbar machen.

Diese Antigen-Antikörper-Reaktion kann man im Labor nutzen um mit synthetisch hergestellten Antikörpern nach den Antigenen in einer beliebigen Probe zu suchen.

Das Grundprinzip der sogenannten **Antigentests** im Labor (diese zielen auf den Nachweis der Antigene durch Antikörper ab, anders als bei der RT-PCR, welche Nukleinsäuren nachweist) besteht darin, dass man zwei passende Antikörper in vitro herstellt, welche zwei verschiedene Epitope des gesuchten Antigens erkennen, ein sogenanntes „**Antikörperpaar**“. Beide Antikörper müssen so ausgesucht sein, dass sie ausschließlich das jeweils gewünschte Epitop auf dem gesuchten Antigen, nicht aber andere Strukturen auf ähnlichen Antigenen erkennen und binden können. Sie müssen also hochspezifisch sein, um in der Diagnostik eingesetzt zu werden. Diese **hohe Spezifität** der diagnostischen Antikörper wird in der Testentwicklung durch Abgleiche mit vielen sehr ähnlichen Epitopen sichergestellt. Hierbei werden alle Antikörper, die ungewünschte Epitope binden verworfen, bis nur ein jeweils ideales Antikörperpaar übrigbleibt, welches die Anforderungen: sehr hohe Spezifität, hohe Bindeeigenschaft (Sensitivität) und keine gegenseitige Beeinflussung aufweist.

Auf diesem Antikörperpaar wird dann der Antigentest aufgebaut, in dem das gesuchte Antigen durch beide Antikörper gleichzeitig gebunden wird und sich zwischen diesen wie der Bratling innerhalb der Sandwich-Brötchen (daher „**Sandwich-Test**“) befindet.

Für die lateral flow **Antigen-Schnelltests**, welche aktuell in der Breitbandtestung der Bevölkerung zum Nachweis von SARS-CoV-2 Antigenen eingesetzt werden, wird nun dieses Sandwich-Testsystem verwendet.

Der erste der beiden spezifischen Antikörper wird hierbei auf eine Trägermaterial so gebunden, dass seine Antigenbindestelle frei nach oben zeigt. Dies ist die spätere Region im Schnelltest, an der ein Farbumschlag das Signal „positiv“ ergibt. Der zweite Antikörper wird mit einem Nachweissystem gekoppelt, welches später für die Farbreaktion verantwortlich ist und befindet sich direkt als Depot neben der Stelle im Schnelltest, an der die Probe aufgetropft wird.

Testablauf: Befindet sich nun in der Abstrichprobe das gesuchte Antigen, hier das gesuchte Protein von SARS-CoV-2, verbindet es sich nach dem Auftropfen in das Testfeld der Nachweiskassette mit dem ersten spezifischen Antikörper aus dem Depot. Über Kapillarkräfte wandert nun das Gemisch aus Antigen mit gebundenem ersten Antikörper sowie überschüssige ungebundene Antikörper aus dem Depot in Richtung auf das Testfeld zu. Hier bindet dann der dort fixierte zweite spezifische Antikörper das Antigen mit dem daran bereits gebundenen ersten Antikörper. Die Lösung wandert über das Testfeld hinaus über ein weiteres Feld, in dem die überzähligen Antikörper abgefangen werden (Kontrollfeld). Das Nachweissystem des Tests beginnt überall dort, wo die ersten Antikörper gebunden sind, mit einer **chemischen Farbreaktion** sichtbar zu werden. Im Kontrollfeld bewirkten dies die überzähligen überschüssigen und hier nun gebundenen ersten Antikörper, welche das Nachweissystem „mitgebracht“ haben und zeigen so an, dass der Test im Prinzip störungsfrei funktioniert hat.

Im Testfeld gibt es nur dann einen Farbumschlag, wenn tatsächlich ein Antigen in der Probe war und über den dort fixierten zweiten Antikörper gebunden wurde. Da das Antigen bereits mit dem ersten Antikörper und dem Nachweissystem am Testfeld angekommen ist, beginnt hier ebenfalls die chemische Farbreaktion, welche zum Farbumschlag (meist violetter Streifen) an der Testregion führt.

Immer dann, wenn folglich in der Abstrichprobe das gesuchte Antigen vorhanden war, kann dieses den ersten Antikörper binden und samt Nachweissystem bis zum fixierten zweiten Antikörper transportieren, der dann diesen Antigen-Antikörper-Nachweissystem-Komplex abfängt und so das positive Signal an dieser Stelle bewirkt.

Der Farbumschlag am Testfeld (Signal „positiv“), der die sichtbaren Streifen im Schnelltest bewirkt, ist eine **chemische Reaktion** und daher von den Reaktionsbedingungen wie z.B. pH-Wert oder Chemikalien die mit der Probe kommen beeinflussbar und eine deutliche Schwachstelle in der Zuverlässigkeit des Tests.

So lassen sich die vielen Videos erklären, welche im Internet kursieren und die SARS-CoV-2 mithilfe der Antigenschnelltests in Apfelsaft, Rotwein, Bier usw. nachweisen.

2.2. Grundsätzliches zur diagnostischen Aussagekraft des Antigen-Schnelltests

Wie die RT-PCR können auch Antigenschnelltests prinzipiell nicht nachweisen, ob das gefundene Virusantigen zu einem intakten, infektiösen Virus gehört, oder ein Überbleibsel (Bruchstück) von Viren ist, welche durch das Immunsystem abgetötet wurden.

Unabhängig von dieser generellen Einschränkung der Aussagekraft hinsichtlich einer Infektiosität, haben Schnelltests nur einen Hinweischarakter, keine sichere diagnostische Aussagekraft.

Der vor Corona-Zeiten bekannteste Schnelltest war der Schwangerschafts-Schnelltest, der nach dem gleichen Prinzip des Antikörper-Antigen Tests funktioniert. Allerdings fungiert hier das Schwangerschaftshormon (HCG) als Antigen. Ist dieses in ausreichender Menge im getesteten Urin vorhanden, zeigt der Test „positiv“ - in diesem Fall vermutlich schwanger, an. Als fundierter Nachweis einer Schwangerschaft wird der Schnelltest alleine jedoch nie ausreichen, hier wird vom Arzt zur Diagnose ein HCG-Nachweis im Blut sowie ein Ultraschall angewendet werden.

Auch die Antigen-Schnelltests für den Nachweis von SARS-CoV-2 Bestandteilen können nur einen Hinweis auf eine mögliche Besiedelung oder Infektiosität geben und unterliegen ähnlichen Begrenzungen wie die RT-qPCR.

2.3. Einflussfaktoren auf die Zuverlässigkeit der Antigen-Schnelltests

2.3.1. Vortestwahrscheinlichkeit

In einer Infographik erläutert das RKI unter der Überschrift „Corona-Schnelltest-Ergebnisse verstehen“

(https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Infografik_Antigentest_PDF.pdf?blob=publicationFile) anschaulich, wie die Wahrscheinlichkeit dass ein Testergebnis stimmt, von der sogenannte **Vortestwahrscheinlichkeit** abhängt, d.h. von der wirklichen Anzahl echt infizierter Personen in der getesteten Population. Dieser Aspekt der Vortestwahrscheinlichkeit gilt sowohl für die Antigen-Schnelltests als auch gleichermaßen für die RT-qPCR-Tests.

Das vom RKI vorgestellte Rechenbeispiel für die Interpretation der Antigen-Schnelltests setzt ein realistisches Szenario ausgehend von einer Sensitivität (Empfindlichkeit) der Antigentests von 80% und einer Spezifität (Zuverlässigkeit) von 98% voraus, wobei auch hier (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html) ausdrücklich erwähnt wird: „Zu beachten sind hierbei die erheblichen Leistungsunterschiede der unterschiedlichen kommerziell erhältlichen Tests (Verweis auf: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.01.20203836v1>).“

Sind angenommen 5 Personen von 10.000 Getesteten wirklich mit SARS-CoV-2 infiziert, zeigen sich dennoch **200 falsch positive Tests** und 4 richtig positive Tests. Das bedeutet, dass 1 echt infizierter je 10.000 Personen übersehen würde, aber 200 ein falsch positives Ergebnis bekommen und daher in Quarantäne/Isolation müssen bis die Überprüfung mit einer RT-qPCR dann „Entwarnung“ gibt. Dies würde im Falle einer Schultestung mit z.B. 1000 Schülern bedeuten, dass 20 ein falsches „Du bist Corona-Positiv“ mitgeteilt bekommen, und die Schule erst einmal als „Ausbruchsort“ gesperrt würde, bis dann die Nachtstestung mittels RT-qPCR Entwarnung gibt. Solche Fälle sind bereits in der Presse berichtet worden.

-So wurden in Altdorf bei Nürnberg von 180 Gymnasiasten 29 im Antigen-Schnelltest positiv getestet, bei Überprüfung entpuppten sich davon 28 als negativ (Merkur: <https://www.merkur.de/bayern/nuernberg/nuernberg-corona-bayern-test-fiasko-schnelltests-fehlerhaft-positiv-schule-alt-dorf-gymnasium-zr-90253265.html>)

- In Potsdam wurden mit einem Antigen-Schnelltest 12 von 36 Lehrern positiv getestet und in Quarantäne geschickt. Nach Überprüfung erwiesen sich alle Testergebnisse als falsch positiv (<https://www.news4teachers.de/2021/03/sorgen-schnelltests-fuer-chaos-an-schulen-falscher-alarm-legt-grundschule-lahm/>)

- Medscape titelt sogar: „200 falsch positiv, 8 entdeckt, 2 übersehen – warum Kinder- und Jugendmediziner Massen-Schnelltests skeptisch sehen“ (<https://deutsch.medscape.com/artikelansicht/4909842>)

Und auch wenn die Rate der echt infizierten in der getesteten Personengruppe sehr hoch wäre, wie im zweiten Rechenbeispiel vom RKI (mit 1000 von 10000 getesteten Personen), wäre die Trefferquote der Schnelltests schlecht und es würden hier 180 Personen einen Falsch positiven Bescheid bekommen und auch 200 einen falsch negativen Test. Hier wirkt sich vor allem dann die schlechte Sensitivität des Tests aus.

In den „**Hinweisen zur Bewertung der Ergebnisse aus AG-Testen**“ (Anmerkung: Antigen-Schnelltests) auf der Seite des RKI wird die **Problematik der falsch positiven Antigentests** thematisiert: „**Ein positives Testergebnis mittels AG-Test löst den Verdacht auf eine übertragungsrelevante Infektion mit dem SARS-CoV-2 aus und bedarf zur Vermeidung falsch-positiver Befunde einer Nachtestung mittels PCR. In Anbetracht der potenziell erheblichen Konsequenzen inkorrekt ergebener Ergebnisse bestehen nicht nur an die Sensitivität von Antigentesten hohe Anforderungen, sondern auch an die Spezifität. So wäre bei niedriger Prävalenz/Vortestwahrscheinlichkeit und geringer Testspezifität mit einer hohen Zahl falsch-positiver Ergebnisse und einer entsprechenden zusätzlichen Belastung des ÖGD durch Auferlegung und ggf. Rücknahme von Maßnahmen zu rechnen.**“
„https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html“

2.3.2. Empfindlichkeit (Sensitivität)

Dadurch, dass im Antigentest keine so starke (exponentielle) Verstärkung des Ausgangssignals wie in der RT-qPCR stattfindet, sondern nur eine begrenzte Signalverstärkung durch die chemische Farbreaktion, **ist diese Testart deutlich weniger empfindlich als der zum Vergleich herangezogene RNA-Nachweis mittels RT-qPCR.**

Diese „Underperformance“ der Antigen-Schnelltests ist Thema in einem Lancet Artikel ([https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)00425-6/fulltext#%20](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00425-6/fulltext#%20)), hier wird allerdings das negative Testergebnis im Antigenschnelltest (hier LTF, lateral flow test genannt) relativiert auf: “[...] **in allen sechs beobachteten Fällen waren die Viruslasten sehr niedrig (Ct ≥29, was etwa <1000 RNA-Kopien pro mL in dem verwendeten Labor widerspiegelt) - wenn der LFT negativ sein sollte.**“ Im Original: „[...] *in all six observed cases, viral loads were very low (Ct ≥29 reflecting around <1000 RNA copies per mL in the laboratory used)—when LFT should be negative.*“

Eine brandneue Studie aus Norwegen (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33736946/>) bestätigt diesen Befund, dass bei asymptomatischen die Schnelltests eine unbefriedigend hohe Ungenauigkeit aufweisen und dass nur bei symptomatischen Personen halbwegs genau die tatsächlich infizierten Personen entdeckt werden. Die Autoren folgern: **“Unsere Ergebnisse zeigen, dass der Test die meisten infektiösen Personen korrekt identifiziert. Dennoch ist die Sensitivität deutlich geringer als bei der PCR“** im Original: „*Our results indicate that the test correctly identified most infectious individuals. Nevertheless, the sensitivity is considerably lower than for PCR*“

Diese **vermeintlich mangelnde Empfindlichkeit** ist der häufigste Kritikpunkt, wenn über die Unzuverlässigkeit der Antigen-Schnelltests berichtet wird. So schreibt die Pharmazeutische Zeitung (<https://www.pharmazeutische-zeitung.de/in-der-praxis-deutlich-unzuverlaessiger-als-auf-dem-papier-123017/>): **„Antigen-Schnelltests könnten zumeist «hochinfektiöse Menschen mit hohen Viruslasten» erkennen, erläutert Keppler. «Es ist jedoch nicht so, dass**

eine Infektion durch das negative Ergebnis eines Schnelltests zuverlässig ausgeschlossen werden könnte.“ Hier wird als Basis jedoch der Antigen-Schnelltest mit der RT-qPCR verglichen und bemängelt, dass nur ein Teil der RT-qPCR positiven Abstrichproben auch im Antigen-Schnelltest positiv werden.

So wird im Epidemiologischen Bulletin 3/2021 vom RKI über eine Studie mit Schnelltests in einer Stuttgarter Klinik berichtet (Ab Seite 11 in: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2021/Ausgaben/03_21.pdf;jsessionid=15E8B09E615AECED77C34439BB8052AF.internet051? blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2021/Ausgaben/03_21.pdf;jsessionid=15E8B09E615AECED77C34439BB8052AF.internet051?blob=publicationFile)). Hier zeigt Tabelle 1, dass von 18 RT-qPCR positiv auf SARS-CoV-2 RNA getesteten asymptomatischen Personen nur 7 auch ein positives Signal im Antigen-Schnelltest aufwiesen und von symptomatischen Personen 36 von 42. In der Diskussion heißt es entsprechend: *„Aufgrund der sehr eingeschränkten Sensitivität des Antigen-Tests bei asymptomatischen Personen, kann die Einzeltestung in diesem Kollektiv eine Infektion mit SARS-CoV-2 nicht hinreichend ausschließen. Hochkontagiöse Personen mit niedrigen Ct-Werten (d. h. hoher Viruslast) werden mit ausreichender Sicherheit erkannt.“* Hierbei zeigen die Daten, *„Ab einem Ct-Wert von 22 oder kleiner lag die Detektionsrate des Antigen-Tests bei 100 %.“*

Dieses Beispiel zeigt sehr deutlich, dass ein zuverlässiger Antigentest bei korrekter Durchführung für symptomatische Personen mit schnellem Ansprechen in der RT-qPCR (niedriger CT-Wert) sehr gut korreliert, bei asymptomatischen, und nur mit hohem CT-Wert RT-qPCR positiven, Personen jedoch nicht. **Diese spricht für die reelle Aussagekraft der Antigen-Schnelltests hinsichtlich der Erkennung einer hohen Viruslast bei symptomatischen Personen.** Für die Testung asymptomatischer Personen ist der Test jedoch nach diesen Daten ungeeignet, sowohl um möglicherweise doch infizierte Personen sicher zu identifizieren als auch um Gesunde sicher als negativ auszuweisen.

Ein solcher Befund wurde auch in der aktuellen Frankfurter Studie (<https://www.mdpi.com/2077-0383/10/2/328>) erzielt, hier wurden drei Antigen-Schnelltests (dort AG-RDT, Antigen-Rapid diagnostic Test) mit einer Virusanzucht aus denselben Proben in Zellkultur abgeglichen und zur RT-qPCR korreliert. Hierzu schreiben die Autoren im Abstract: *„In contrast, three Ag-RDTs demonstrated a more significant correlation with cell culture infectivity (61.8–82.4%)“.* Was bedeutet, dass aus denjenigen Proben, welche im Antigentest positiv waren, mit deutlich höherer Trefferquote auch in der Virusanzucht ein positives Ergebnis gesehen wurde, als bei den deutlich empfindlicheren RT-qPCR „Postiven“.

Auch eine aktuell publizierte Studie des CDC weist auf die hohe Übereinstimmung des Antigentests mit tatsächlich vernehmungsfähigem Virus in einer Probe bei symptomatischen Patienten hin (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7821766/>). Hier wurde ein kommerzieller Antigen-Schnelltest mit einer Virusanzucht in Zellkultur und einer RT-qPCR abgeglichen. Es zeigt eine hohe Trefferrate (positives Ergebnis) des Antigentests nur dann, wenn die Proben auch **vernehmungsfähiges Virus** enthielten. Hier konnte aus 85 der insgesamt 147 Proben (=58%), welche im Antigen-Schnelltest und der RT-PCR (hier mit einem CT von ca. 22) positiv waren, Viren angezüchtet werden, aber nur aus 11 der 124 Proben (= 9%), welche RT-qPCR positiv (hier mit einem CT von 33-34) aber Antigen-Schnelltest negativ waren.

Eine weitere Studie vom CDC (<https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciab303/6224406>) korrelierte ein positiver Antigentest mit einem CT

von unter 29, und der Anzüchtbarkeit von Viren in Zellkultur (ebenfalls bis CT29). Alle in der RT-qPCR positiven Probanden-Proben mit einem CT ≥ 35 waren im Antigen-Nachweis negativ.

In einer aktuellen Publikation der Arbeitsgruppe von Christian Drosten (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8026170/> er ist Letztautor), in der verschiedene Antigentests auf Zuverlässigkeit überprüft werden, wird explizit auch der Zusammenhang „positiver Antigentest“ und Viruslast sowie Infektiosität beschrieben.

Bereits im Abstract heißt es: „**Der Empfindlichkeitsbereich der meisten AgPOCTs** (Anmerkung: Antigen Point of Care Tests als Bezeichnung für Schnelltest) **überschneidet sich mit den SARS-CoV-2-Viruslasten, die typischerweise in der ersten Woche der Symptome beobachtet werden, die den infektiösen Zeitraum bei den meisten Patienten markiert. Die AgPOCTs mit Nachweisgrenzen, die sich den Viruskonzentrationen annähern, bei denen die Patienten infektiös sind, könnten Abkürzungen bei der Entscheidungsfindung in verschiedenen Bereichen des Gesundheitswesens und der öffentlichen Gesundheit ermöglichen.**“ Im Original: „*The sensitivity range of most AgPOCTs overlaps with SARS-CoV-2 viral loads typically observed in the first week of symptoms, which marks the infectious period in most patients. The AgPOCTs with limit of detections that approximate virus concentrations at which patients are infectious might enable shortcuts in decision making in various areas of health care and public health.*“

Als Nachweisgrenze wird eine Viruslast von $2-9 \times 10^6$ Kopien je Abstrich angegeben, was im Abgleich mit einer Virusanzucht in Zellkultur dennoch nur in 1/5 der Fälle zum Erfolg (= ausreichend hohe Viruslast) führen würde. (Im Original: „*In terms of analytical sensitivity, the detection range of most AgPOCTs was found to range between around 2 million and 9 million copies per swab (accounting for a systematic predilution), and thus corresponds to a concentration that can be expected to yield a virus isolation success rate of around 20% in cell culture*“)

Allgemein festzuhalten ist aus diesen publizierten Daten:

- Proben, aus denen sich in Zellkultur Viren anzüchten lassen, die also eine hohe (infektiöse) Viruslast aufweisen, werden mit guter Treffergenauigkeit durch die Antigen-Schnelltests und durch eine RT-PCR mit niedrigem CT (unter 25) identifiziert, stammen aber in großer Mehrheit von symptomatischen Personen.
- Proben aus denen sich in Zellkultur keine Viren anzüchten lassen, sind in evaluierten und fachlich korrekt angewendeten Antigen Schnelltests meist negativ (abgesehen von den falsch positiven - siehe 2.3.3) und weisen in der RT-qPCR hohe CT-Werte (meist über 33) auf. Diese Proben stammen überwiegend von asymptomatischen getesteten Personen und beweisen, dass diese zufälligen „Positiven“ ohne klinische Symptome keine infektiöse Viruslast haben.

2.3.3. Zuverlässigkeit (**Spezifität**) - Ausschluss von falsch positiven Ergebnissen

Viele der verwendeten Antigen-Schnelltests haben bisher kein reguläres Konformitätsbewertungsverfahren zur CE-Kennzeichnung durchlaufen und haben vom BfArM bisher nur eine **Sonderzulassung nach §11 Medizinproduktgesetz** erteilt bekommen

(<https://www.bfarm.de/DE/Medizinprodukte/Antigentests/node.html>). In der Breite werden diese Tests darüber hinaus von ungeschultem, nichtmedizinischen Personal oder sogar als „Selbsttests“ durchgeführt.

Zu dieser Problematik der Durchführung von Antigen-Schnelltests fordert Professor Dr. Oliver Keppler, Chef der Virologie am Max-Pettenkofer-Institut der Münchener Ludwig-Maximilians-Universität im Artikel in der Pharmazeutischen Zeitung vom 13.01.2021 (DOI: [10.1007/s00430-020-00698-8](https://doi.org/10.1007/s00430-020-00698-8)): „[...] diese Tests müssten auch unbedingt korrekt durchgeführt werden. «Das sollte in Händen geschulten Fachpersonals sein», sagt er. «Nun gibt es die Idee, große Zahlen von Arbeitssuchenden zu rekrutieren, um solche Tests in Alten- und Pflegeheimen durchzuführen. **Wenn ungeschultes Personal zum Einsatz kommt, habe ich Sorge, dass die Zuverlässigkeit der Testergebnisse noch weiter leiden wird**“

In einem aktuellen Interview (<https://www.br.de/nachrichten/wissen/virologe-keppler-kritisiert-corina-schnelltests-falsche-sicherheit,SUG0dZZ>) Nimmt Herr Keppler zur Frage „Wie verlässlich ist ein positives Testergebnis?“ wie folgt Stellung: „Es gibt leider auch Probleme mit der Spezifität der Antigen-Schnelltests: **Abhängig von der Inzidenz und dem verwendeten Test kommen nach RKI-Angaben auf einen "echt" Positiven etwa zehn "falsch" Positive.** Auch das hat ernste Konsequenzen für den Betroffenen: Unmittelbare Meldung an das Gesundheitsamt und Quarantäne bis zum Erhalt einer negativen PCR, Kontaktlisten erstellen. Das verursacht einen großen Aufwand, mehrtägigen Arbeits- und Schulausfall und nicht zuletzt unberechtigte Ängste. Auch untergräbt es noch weiter das Vertrauen in die nationale Teststrategie.“

Ein aktueller Cochran Übersichtsartikel (<https://www.cochrane.de/de/news/aktualisierter-cochrane-review-bewertet-zuverl%C3%A4ssigkeit-von-schnelltests-zum-nachweis-von-covid>) kommt zu dem Ergebnis, dass die Antigen-Schnelltests bei symptomatischen Personen deutlich zuverlässiger sind, als bei symptomlosen Getesteten. Aber selbst bei symptomatischen Personen ist die Zuverlässigkeit der besten der in dieser Studie bewerteten Schnelltests deutlich eingeschränkt, so dass die Autoren folgende Szenarien beschreiben:

1. „In einer Population von **1000 Personen mit Symptomen**, von denen **50 Personen tatsächlich COVID-19** haben, kann man mit diesen Schnelltests erwarten, dass etwa **40 Personen korrekt als COVID-19-Infizierte identifiziert werden** und zwischen 6 und 12 Fälle von COVID-19 übersehen werden. **Zwischen 5 und 9 der positiven Testergebnisse würden sich bei einer Überprüfung als falsch positiv herausstellen.**“
2. „In einer Gruppe von **10.000 Personen ohne Symptome**, in der **50 Personen** wirklich mit SARS-CoV-2 infiziert sind, würden zwischen **24 und 35 Personen korrekt als Virus-Träger** identifiziert werden, zwischen 15 und 26 Fälle würden übersehen werden. Man müsste damit rechnen, dass die Tests zwischen 125 und 213 positive Ergebnisse liefern würden und **dass zwischen 90 und 189 dieser positiven Ergebnisse tatsächlich falsch positiv wären.**“

Auch in der aktuellen Publikation der Arbeitsgruppe von C. Drosten an der Charité wird die Problematik der „falsch Positiven“ - hier allerdings unter kontrollierten Laborbedingungen - aufgezeigt und diskutiert. Die überprüften Tests reagierten mit verschiedensten üblichen respiratorischen Viren falsch positiv -was durch eine PCR mittels E-Gennachweis, welche

negativ blieb) bestätigt wurde. Im Original: „*All negative samples that showed a SARS-CoV-2 false-positive result in AgPOCTs were retested and **confirmed as false-positive** with SARS-CoV-2 RT-rtPCR.*“ (S. 5 in <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8026170/> oben)

Wobei die Autoren um C. Drosten eine **falsch positive Rate von bis zu 3% als akzeptabel** bezeichnen und in 2 Tests sogar Ausnahmen 5% falsch positive festgestellt haben. Im Original: „*We observed acceptable rates of false-positive results (<3%) with most AgPOCTs, but rates greater than 5% with two assays in particular*“

Selbst unter kontrollierten Laborbedingungen mit Fachpersonal würden also laut der Publikation von C. Drosten bei 1000 Schnelltests im Mittel 30 falsch positive Ergebnisse mit kommerziellen Schnelltests durch Kreuzreaktivität mit anderen respiratorischen Viren oder „*unbekannten Faktoren*“ („*thus, a specific factor other than the tested pathogens was likely to have caused positive signals*“) zu erwarten sein.

Zu den Folgen falsch positiver Ergebnisse aufgrund mangelnder Testspezifität siehe unter 2.3.1. „Vortestwahrscheinlichkeit“

2.5. Fazit:

Die zum Massentest eingesetzten Antigen-Schnelltests können **keinerlei Aussage über eine Infektiosität leisten**, da hiermit nur Protein-Bestandteile ohne Zusammenhang mit einem intakten, vermehrungsfähigen Virus nachgewiesen werden können.

1. Um eine Abschätzung der Infektiosität der getesteten Personen zu erlauben, müsste der jeweilig durchgeführte positive Test (ähnlich wie der RT-qPCR) individuell mit einer Anzüchtbarkeit von Viren aus der Testprobe abgeglichen werden, was unter den extrem variablen und nicht überprüfbaren Testbedingungen unmöglich ist.
2. Die geringe Spezifität der Tests bedingt eine **hohe Rate an falsch positiven Ergebnissen**, welche unnötige personelle (Quarantäne) und gesellschaftliche (z.B. Schulen geschlossen, „Ausbruchsmeldungen“) nach sich ziehen bis sie sich als Fehlalarm entpuppen.

Ich versichere, das Gutachten unparteiisch und nach bestem Wissen und Gewissen erstattet zu haben.



Ulrike Kämmerer
Würzburg, 23.04.2021

A 18

Universität Duisburg-Essen**Ressort Presse**Stabsstelle des Rektorats Hochschulmanagement und Kommunikation
</de/presse>

Meldungen aus der UDE



© UDE/Frank Preuß

Rund 190.000 PCR-Tests ausgewertet

Ergebnisse allein ungeeignet als Grundlage für Pandemie-Maßnahmen

von Martin Rolshoven | 18.06.2021

Forschende der Medizinischen Fakultät der UDE weisen im renommierten Journal of Infection* darauf hin, dass die Ergebnisse von RT-PCR-Tests allein eine zu geringe Aussagekraft haben, um damit Maßnahmen zur Pandemiebekämpfung zu begründen. Gemäß ihrer Untersuchung beweisen positive Testergebnisse nicht hinreichend, dass mit SARS-CoV-2 Infizierte andere Personen mit dem Coronavirus anstecken können. Zusammen mit Wissenschaftler:innen der Universität Münster und dem MVZ Labor Münster hatten sie zuvor rund 190.000 Ergebnisse von mehr als 160.000 Menschen dahingehend ausgewertet.

Die RT-PCR-Test-Technik gilt als Goldstandard, wenn es um den Nachweis einer Infektion mit dem Coronavirus SARS-CoV-2 geht. Sie kann nur in spezialisierten Einrichtungen durchgeführt werden. Während der Pandemie wurden und werden die Ergebnisse von Corona-Tests mittels RT-PCR-Technik verwendet, um die Zahl der bundesweiten Neuinfektionen pro 100.000 Einwohner:innen (Inzidenz) zu ermitteln.

Dieser Inzidenzwert bildet für Bund und Länder wiederum eine wichtige Basis, um Anti-Corona-Maßnahmen zu begründen, zum Beispiel Kontaktbeschränkungen bzw. Ausgangssperren. Dies stellen die Forschungsteams aus Essen und Münster jedoch aufgrund ihrer Datenauswertung infrage. „Ein positiver RT-PCR-Test allein ist nach unserer Studie kein hinreichender Beweis dafür, dass Getestete das Coronavirus auf Mitmenschen auch übertragen können“, sagt Erstautor Prof. Dr. Andreas Stang, Direktor des Instituts für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie (IMIBE) des Universitätsklinikums Essen. „Die am Ende errechnete Zahl von SARS-CoV-2 positiv Getesteten sollte daher nicht als Grundlage für Pandemiebekämpfungsmaßnahmen, wie Quarantäne, Isolation oder Lockdown, benutzt werden.“

Die Autor:innen raten deshalb, Daten aus anderen Bereichen zur Bewertung der Pandemie-Lage zu erheben bzw. zu nutzen. „Geeigneter wären zum Beispiel verlässliche Angaben zur Intensivbetten-Belegung sowie zur Mortalität, also zu der jeweiligen Zahl der Todesfälle in Zusammenhang mit COVID-19“, schlägt Epidemiologe Prof. Stang vor. In seinem Fachgebiet werden Folgen von Epidemien auf Gesellschaften untersucht. ^

Das Forschungsteam spricht aber auch über die Möglichkeit, die Aussagekraft des RT-PCR-Wertes bei künftigen Bewertungen der Pandemielage zu verbessern, indem der sog. Cycle-threshold-Wert (Ct-Wert) einbezogen wird. Durch die auch als Schwellen-Zyklus-Wert bekannte Zahl können Aussagen über die Ansteckungsgefahr durch positiv getestete Personen gemacht werden. Liegt der Ct-Wert bei positiv Getesteten bei 25 oder höher, geht man derzeit davon aus, dass diese nicht mehr ansteckend sind, weil die Viruslast zu gering ist. „Bei durchschnittlich etwa 60 % der Getesteten mit COVID-19-Symptomen wurden solch hohe CT-Werte nachgewiesen; in den Wochen 10 bis 19 waren es sogar 78 %, die sehr wahrscheinlich nicht mehr ansteckend waren“, betont Prof. Stang. „Auch das Abfragen von COVID-19-Symptomen bei Getesteten würde helfen, die Ergebnisse von RT-PCR-Tests besser bewerten zu können.“

*Originalveröffentlichung:

„The performance of the SARS-CoV-2 RT-PCR test as a tool for detecting SARS-CoV-2 infection in the population“

<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.05.022> <<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.05.022>>

Weitere Informationen:

Prof. Dr. Andreas Stang, IMIBE, imibe.dir@uk-essen.de <<http://imibe.dir@uk-essen.de>>

Redaktion: Martin Rolshoven, Medizinische Fakultät, ✉ martin.rolshoven@uk-essen.de <<mailto:martin.rolshoven@uk-essen.de>>, Tel. 0201/723-6274

[FORSCHUNG </AKTUELL/THEMEN.PHP?MODE=CATEGORY&ARTICLES=FORSCHUNG>](#) | [</AKTUELL/THEMEN.PHP?MODE=CATEGORY&ARTICLES=>](#) | [STUDIEN UND UMFRAGEN </AKTUELL/THEMEN.PHP?MODE=CATEGORY&ARTICLES=STUDIEN UND UMFRAGEN>](#) | [PRESSEINFO </AKTUELL/THEMEN.PHP?MODE=CATEGORY&ARTICLES=PRESSEINFO>](#)

Zurück <[javascript:history.back\(\)](#)>

Nach Kategorien filtern:

-- Presseinformationen </aktuell/presseinfos.php>

-- Alle Meldungen </aktuell/>

Hochschulpolitik </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Hochschulpolitik&c=1>

Forschung </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Forschung&c=1>

Studium </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Studium&c=1>

Zur Person </aktuell/zur_person.php>

International </aktuell/themen.php?mode=category&articles=International&c=1>

Campus </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Campus&c=2>

Tagungen </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Tagungen&c=1>

Termine </aktuell/termine.php>

Ausschreibungen </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Ausschreibungen&c=1>

Umfragen & Studien </aktuell/themen.php?mode=category&articles=Umfragen&c=1>

Archiv (bis 2016) </aktuell/archiv.php>

Ressort Presse

Campus Duisburg

Kontakt

Team

^

Forsthausweg 2, LG 116-123
47057 Duisburg

Campus Essen

Universitätsstraße 2, T01 S04 B44
45141 Essen

Aktuell

- [Presseinformationen](#)
- [Pressefotos](#) | [Bildarchiv](#)
<<http://www.flickr.com/photos/57915984@N04>>
- [UDE aktuell](#)
- [Veranstaltungskalender](#)
- [Pressespiegel](#)

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

Fax zentral

+49 (0)203 37 92428

E-Mail zentral

✉ presse@uni-due.de

Downloads

- [Veröffentlichungen](#)
- [Hilfen & Materialien](#)
- [Daten & Fakten](#)
- [Lagepläne](#)
- [Corporate Design](#)





Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jinf

Letter to the Editor

The performance of the SARS-CoV-2 RT-PCR test as a tool for detecting SARS-CoV-2 infection in the population

Dear Editor,

Worldwide, detection and monitoring of SARS CoV-2 infection continues to be based on results of the real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) test. A recent scoping review in this journal reported that assessment of the diagnostic accuracy of the RT-PCR test for SARS-CoV-2 has been less than perfect [1]. We analysed real-world data from a large laboratory in the city of Münster (population 313,000), Germany, derived from a single fully automated high throughput RT-PCR platform (cobas SARS-CoV-2 RT-PCR system, Roche Diagnostics) utilizing the same two gene targets for the entire study period (weeks 10-49, 2020). This laboratory performed about 80% of all SARS-CoV-2 RT-PCR tests in the Münster region during this time. We explored changes in the percentage of positive RT-PCR tests (positive rate) over time. In addition, we assessed the influence of covariates such as age, sex, calendar time, and symptoms at the time of first RT-PCR test on the distribution of cycle threshold (Ct) values.

Nearly all swab specimens were tested within 24 hours of collection. The tests and their interpretation were carried out in accordance with the Roche cobas SARS-CoV-2 emergency use authorization (EUA) protocol, the specific targets of the test being the open reading frame (ORF) 1ab and the pan-Sarbecovirus E genes. The limit of detection, defined as the concentration of analyte that will be detected in 95% of replicate tests was 0.007 median tissue culture infectious doses (TCID₅₀) per ml for target 1 and 0.004 TCID₅₀/ml for target 2, corresponding to Ct values of approximately 33 and 36, respectively (cobas® SARS-CoV-2 package insert, version 1.0).

RT-PCR tests that had not crossed the positivity threshold after the 40th cycle were reported as "negative". The Ct value is inversely proportional to the initial amount of target nucleic acid and is thus a relative indicator of the concentration of viral particles in the clinical specimen. An increase in Ct value of three points indicates that the initial amount of viral particles was smaller by a factor of about ten.

We categorized our population-based Ct values according to the recommendations of the UK Office for National Statistics (ONS) COVID-19 household survey as < 25 and ≥ 25 [2]. Since there has been some discussion regarding this Ct-threshold [3-5], we performed a second categorization using a cutoff of < 30 versus ≥ 30. For a small subset of 58 people, sufficient clinical information was available to allow classification as symptomatic or asymptomatic.

Of 162,457 tested individuals, 4,164 (2.6%) had a positive RT-PCR test. The positive rate was lower among children aged 0-9

years (2.2%) and among adults aged 70 or more (1.6%), compared to the intermediate group aged 10-69 years (2.8%). The positive rate was strongly linked to the national SARS-CoV-2 test strategy. During the first and third phase of national testing, predominantly symptomatic people were tested. During these phases, the positive rates were higher than during the intermittent second phase corresponding to the summer season, when predominantly asymptomatic individuals were tested. The positive rate during the third phase was considerably higher than during the first phase. During the peak of testing asymptomatic individuals, only 0.4% tested positive with a mean Ct value of 28.8. Higher mean Ct values were observed among children aged 0-9 years (28.6) and adults above 70 years (27.0). Only 40.6% of positive tests showed Ct values below the threshold of 25, indicating a likelihood of the person being infectious (Table 1). In the small group of individuals for whom clinical information was available, symptomatic subjects had a markedly lower mean Ct value of 25.5 compared to asymptomatic subjects, who showed a mean Ct value of 29.6 (Figure 1).

Most positive tests in our sample showed Ct values of 25 or higher, indicating a low viral load. Ct values were on average lower in symptomatic than in asymptomatic individuals. Our results are similar to the observations made in the ONS Survey with consistently low positive rates (0.06%) during the summer months, followed by a rise to more than 1% by the end of October 2020. A substantial proportion (45%-68%) of test positive individuals in the UK did not report symptoms at the time of their positive PCR test [6].

In light of our findings that more than half of individuals with positive PCR test results are unlikely to have been infectious, RT-PCR test positivity should not be taken as an accurate measure of infectious SARS-CoV-2 incidence. Our results confirm the findings of others that the routine use of "positive" RT-PCR test results as the gold standard for assessing and controlling infectiousness fails to reflect the fact "that 50-75% of the time an individual is PCR positive, they are likely to be post-infectious" [7].

Asymptomatic individuals with positive RT-PCR test results have higher Ct values and a lower probability of being infectious than symptomatic individuals with positive results. Although Ct values have been shown to be inversely associated with viral load and infectivity, there is no international standardization across laboratories, rendering problematic the interpretation of RT-PCR tests when used as a tool for mass screening.

Declaration of Competing Interest

Paul Cullen has received speaker's fees from Roche Diagnostics. None of the other authors declares any conflict of interest.

Table 1
Characteristics of people who underwent PCR testing in the region of Münster, North Rhine-Westphalia, Germany, March 26 - December 6, 2020

	Number of tests ¹⁾	Positive tests		Mean Ct value among positive tests ²⁾		Percentage of positive tests with Ct values ²⁾	
		N	%	Mean	SD	< 25	< 30
All	162,457	4164	2.6	26.5	5.2	40.6	69.6
Men	70,043	1981	2.8	26.4	5.3	42.0	69.6
Women	92,113	2165	2.4	26.6	5.1	39.4	69.5
Unknown	301	18	6.0	27.4	5.2	38.9	66.7
Swab site							
Nose & throat	8637	222	2.6	25.9	5.4	43.0	72.9
Throat	7059	151	2.1	26.2	4.5	41.7	77.2
Unspecified/other	146,761	3791	2.6	26.6	5.2	40.4	69.1
Age group							
0-9	9978	222	2.2	28.6	4.7	21.1	56.5
10-19	15,200	536	3.5	26.8	4.9	38.2	71.4
20-29	21,613	745	3.5	26.4	5.1	41.6	69.4
30-39	21,830	572	2.6	26.3	5.1	42.7	72.3
40-49	21,373	600	2.8	26.3	5.4	43.8	69.1
50-59	25,367	665	2.6	26.0	5.3	44.4	72.9
60-69	17,460	351	2.0	26.0	5.1	46.0	73.5
70-79	12,155	214	1.8	27.1	5.2	35.3	65.8
80-89	13,196	185	1.4	26.8	5.2	37.4	64.5
90-99	3699	55	1.5	27.0	5.4	37.0	63.0
100+	29	1					
unknown	557	18	3.2	31.3	4.9	11.8	29.4
Calendar week							
10-19	12,985	305	2.4	28.7	5.1	22.1	46.8
20-44	132,488	2418	1.8	26.5	5.2	40.5	69.6
45-49	16,984	1441	8.5	26.4	5.1	41.8	70.7
Specific phases of the pandemic ³⁾							
Peak 1 st wave	2190	36	1.6	27.8	5.4	26.5	55.9
Traveler return	16,874	68	0.4	28.8	5.5	26.9	55.2
Peak 2 nd wave	4022	367	9.1	26.6	5.1	39.5	69.8

Legend table: SD = standard deviation

¹⁾ only persons with tests that were clearly either positive or negative were included

²⁾ among 4164 people tested positive, the Ct value was available for 3810 people (91.5%); Ct values were not retrievable for positive tests during the calendar weeks 12-13 and 16-25 in 2020

³⁾ Peak of 1st wave in weeks 12-13 (16.-29.3.2020); proxy weeks 13-14; unselective testing in weeks 33-34 (peak of tests for traveler return); peak of 2nd wave in weeks 50-51 (7.-20.12.2020), proxy weeks 48-49

Reference

1. Axell-House DB, Lavingia R, Rafferty M, Clark E, Amirian ES, Chiao EY. The estimation of diagnostic accuracy of tests for COVID-19: A scoping review. *J Infect* 2020;**81**(5):681-97.
2. Office of National Statistics (ONS), COVID-19 infection survey. Cycle threshold and household transmission analysis. Release date 18 Dec 2020; reference number 12683. <https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/adhocs/12683coronaviruscovid19infectionsurveycyclethresholdandhouseholdtransmissionanalysis>. Available at: <https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/adhocs/12683coronaviruscovid19infectionsurveycyclethresholdandhouseholdtransmissionanalysis>. Accessed 12-2-2021.
3. Yu F, Yan L, Wang N, et al. Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS-CoV-2 in Infected Patients. *Clin Infect Dis* 2020;**71**(15):793-8.
4. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis* 2020.
5. Krupp K, Madhivanan P, Perez-Velez CM. Should qualitative RT-PCR be used to determine release from isolation of COVID-19 patients? *J Infect* 2020;**81**(3):452-82.

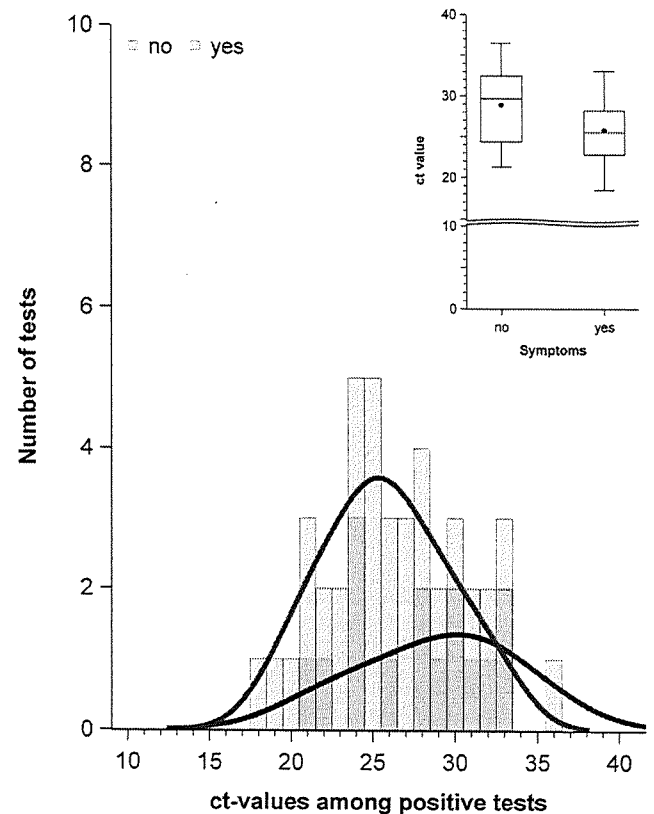


Figure 1. Ct value distribution among symptomatic and asymptomatic individuals with positive tests in the region of Münster, North Rhine-Westphalia, Germany, 2020

Legend: "no" means "no symptoms", "yes" means "symptoms"; dots in the box plot indicate mean values and horizontal lines in the boxes indicate median values. Asymptomatic individuals: n=19, median 29.6, mean 28.8, SD 4.3; symptomatic individuals: n=39, median 25.5, mean 25.8, SD 3.7

6. Pouwels KB, House T, Pritchard E, et al. Community prevalence of SARS-CoV-2 in England from April to November, 2020: results from the ONS Coronavirus Infection Survey. *Lancet Public Health* 2021;**6**(1):e30-e8.
7. Mina MJ, Peto TE, Garcia-Finana M, Semple MG, Buchan IE. Clarifying the evidence on SARS-CoV-2 antigen rapid tests in public health responses to COVID-19. *Lancet* 2021.

Andreas Stang, MD, MPH*
Institute of Medical Informatics, Biometry and Epidemiology,
University Hospital Essen, Germany; School of Public Health,
Department of Epidemiology, Boston University, Boston, USA

Johannes Robers, MTA
MVZ Labor Münster Hafengeweg GmbH, Hafengeweg 9-11; 48155,
Münster, Germany

Birte Schonert, MTA
MVZ Labor Münster Hafengeweg GmbH, Hafengeweg 9-11; 48155
Münster, Germany

Karl-Heinz Jöckel, PhD
Institute of Medical Informatics, Biometry and Epidemiology,
University Hospital Essen, Germany

Angela Spelsberg, MD, SM
Tumorzentrum Aachen e.V., Pauwelsstraße 30, 52074 Aachen,
Germany

Ulrich Keil, MD, PhD
Institute of Epidemiology and Social Medicine, University of Münster,
Albert Schweitzer Campus 1, 48149 Münster

Paul Cullen, MD, MSc
MVZ Labor Münster Hafenweg GmbH, Hafenweg 9-11; 48155,
Münster, Germany

*Corresponding author: Prof. Andreas Stang, MD, MPH, Institut
für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie,
Universitätsklinikum Essen, Germany. Tel.: +49 201 723 77 201;
fax: +49 201 723 77 333

E-mail addresses: imibe.dir@uk-essen.de (A. Stang),
johannes.robbers@labor-muenster.de (J. Robers),
birte.schonert@labor-muenster.de (B. Schonert),
k-h.joeckel@uk-essen.de (K.-H. Jöckel), spelsberg@tuzac.de (A.
Spelsberg), keilu@uni-muenster.de (U. Keil),
p.cullen@labor-muenster.de (P. Cullen)